



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO

INSTITUTO DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

LICENCIATURA EN QUÍMICA EN ALIMENTOS

**“CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y TÉRMICA
DEL ALMIDÓN DE MAÍZ (*Zea mays* L) OBTENIDO
POR DIFERENTES MÉTODOS DE AISLAMIENTO”**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADO EN QUÍMICA EN ALIMENTOS**

**PRESENTA:
TOMAS TOVAR BENÍTEZ**

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. CARLOS ALBERTO GÓMEZ ALDAPA**



PACHUCA DE SOTO, HIDALGO, 2008



QA

QUÍMICA EN ALIMENTOS

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Alimentos I del Centro de Investigaciones Químicas (CIQ) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

***“Un hombre libre es aquel
que no tiene miedo a probar sus ideas”***

Leon Blum (1872-1950)

DEDICATORIAS

A **Dios**, por que aunque no creo, le temo.

A **mis padres**, que me han dado todo para que yo tenga una carrera profesional, por su confianza y su apoyo en todo momento, y sobre todo por creer en mí. La vida no me alcanzaría para agradecerles todo lo que han hecho por mí, pero este trabajo también es de ustedes y es un comienzo.

A **mis hermanas**, por su apoyo y su paciencia, ya que anteponían sus trabajos para que yo terminara los míos. Aquí estaré para ayudarlas y aconsejarlas cuando lo necesiten.

A **Mariana**, gracias por caminar junto a mí en esta etapa de la vida, por tus abrazos y tus consejos cuando más lo necesitaba, por escucharme y entenderme aunque no tuviera la razón, por todos los momentos que hemos pasado juntos. Gracias por ser mi amiga, mi confidente y sobre todo mi novia, eres una persona maravillosa y doy gracias a la vida el haberte conocido. TE AMO, y tú sabes cuanto.

AGRADECIMIENTOS

Al **Dr. Carlos Alberto Gómez Aldapa**, por permitirme ser parte de su grupo de trabajo y la confianza que deposito en mí. Gracias por sus consejos, su apoyo, su paciencia, y sus opiniones para la realización de la tesis.

A **mis sinodales**, por el tiempo y apoyo que se tomaron revisando esta tesis.

A **mis profesores**, por compartir sus conocimientos y experiencias, por que de todos ellos aprendí valiosas lecciones para reforzar mi desarrollo profesional.

A la **familia Benítez**, por su apoyo, sus consejos y ánimos para seguir luchando.

A **mis amigos**, por su apoyo incondicional dentro y fuera de la Universidad (Bertha, Manuel Alejandro).

A todas las personas que han participado en mi formación, por sus enseñanzas, he podido dar un paso más en mi desarrollo profesional.

ÍNDICE GENERAL

Índice de figuras	ix
Índice de tablas	x
Resumen	1
I. Introducción	2
II. Antecedentes	4
1. Maíz	4
1.1 Origen	4
1.2 Clasificación taxonómica	5
1.3 Estructura del grano de maíz	5
1.4 Composición química del grano de maíz	8
1.5 Producción	12
1.6 Usos del maíz	12
2. Almidón	15
2.1 Composición química del almidón	16
2.1.1 Amilosa	16
2.1.2 Amilopectina	18
2.2 Amilosa y amilopectina en el gránulo de almidón	20
2.3 Proteínas en el gránulo de almidón	23
2.4 Aislamiento de almidón	25
2.4.1 Molienda húmeda para la producción de almidón de maíz	25
3. Microscopia electrónica de barrido (SEM)	27
4. Cambios hidrotérmicos producidos en el almidón	29
4.1 Gelatinización	29
4.2 Retrogradación	32

5. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	33
5.1 Aplicación de la DSC en alimentos	34
III. Objetivos	36
1. Objetivo general	36
2. Objetivos específicos	36
IV. Materiales y métodos	37
1. Materiales	37
1.1 Materia prima	37
1.2 Reactivos	37
2. Métodos	37
2.1 Obtención de la harina de maíz	37
2.2 Aislamiento del almidón	37
2.2.1 Método 1	38
2.2.2 Método 2	38
2.2.3 Método 3	39
2.2.4 Método 4	40
2.3 Porcentaje de almidón recuperado	41
2.4 Análisis proximal del almidón	41
2.4.1 Humedad	41
2.4.2 Cenizas	41
2.4.3 Lípidos	42
2.4.4 Proteínas	42
2.4.5 Carbohidratos	42
2.4.6 Fibra	42
2.5 Microscopia electrónica de barrido (SEM)	44
2.6 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	44
2.7 Análisis estadístico	44

V. Resultados y discusiones	45
1. Porcentaje de almidón recuperado	45
2. Análisis proximal del almidón	47
3. Microscopia electrónica de barrido (SEM)	48
4. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)	50
VI. Conclusiones	58
VII. Bibliografía	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Número	Página
Figura 1. Estructura del grano de maíz.	7
Figura 2. Estructura química de la amilosa.	17
Figura 3. Estructura química de la amilopectina.	19
Figura 4. Diagrama de la estructura molecular de las cadenas de amilopectina.	21
Figura 5. Estructura del gránulo de almidón.	22
Figura 6. Estructura helicoidal de la amilosa (A) y estructura en racimos de la amilopectina (B).	22
Figura 7. Representación esquemática de los cambios en el almidón durante el calentamiento en exceso de agua.	31
Figura 8. Micrográficas del almidón de maíz aislado por el método 1 a una amplitud de 500X (A) y 1500X (B).	51
Figura 9. Micrográficas del almidón de maíz aislado por el método 2 a una amplitud de 500X (A) y 1500X (B).	52
Figura 10. Micrográficas del almidón de maíz aislado por el método 3 a una amplitud de 500X (A) y 1500X (B).	53
Figura 11. Micrográficas del almidón de maíz aislado por el método 4 a una amplitud de 500X (A) y 1500X (B).	54

ÍNDICE DE TABLAS

Número	Página
Tabla 1. Clasificación taxonómica del maíz.	6
Tabla 2. Composición química de diferentes cereales.	9
Tabla 3. Proteínas presentes en el grano de maíz.	11
Tabla 4. Composición química de las partes del grano de maíz.	11
Tabla 5. Principales países productores de maíz en el 2006.	13
Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas de los componentes del almidón.	17
Tabla 7. Composición química de gránulos de almidón.	24
Tabla 8. Características de los gránulos de almidón de diferentes fuentes botánicas.	28
Tabla 9. Parámetros utilizados en la operación del equipo LECO TFE2000.	43
Tabla 10. Parámetros utilizados en la operación del equipo LECO FP-528.	43
Tabla 11. Porcentaje para almidón de maíz recuperado por distintos métodos de aislamiento.	46
Tabla 12. Composición química para almidón de maíz aislado por distintos métodos.	49
Tabla 13. Temperaturas de transición y entalpía de gelatinización para almidón de maíz aislado por distintos métodos.	55

RESUMEN

El almidón es un carbohidrato importante debido a su amplio uso en la industria de alimentos, textil, papelera, farmacéutica y en el entorno ecológico. La mayor fuente de obtención son los cereales en especial el maíz. Este organizado en partículas discretas conocidas como gránulos, cuya morfología, composición química y estructura va a depender de la fuente de obtención. Básicamente el conocer las características estructurales y moleculares que posee este carbohidrato nos sirve para sugerir posibles aplicaciones. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar morfológica y térmicamente almidón de maíz (*Zea Mays L*) obtenido por diferentes métodos de aislamiento. Se utilizaron para el aislamiento del mismo cuatro distintos métodos, a cada almidón obtenido se le realizó un análisis proximal, se determinó el porcentaje de almidón recuperado, análisis de microscopia electrónica de barrido (SEM) y de calorimetría diferencial de barrido (DSC). De acuerdo al análisis proximal y al porcentaje de almidón recuperado que se realizó a cada método de aislamiento, los gránulos de almidón de maíz obtenidos por el segundo método, revelaron un contenido bajo en proteínas y lípidos, lo cual nos indica que mediante este procedimiento se obtuvo un almidón de mayor pureza, es decir, las condiciones empleadas son las adecuadas para eliminar la mayor cantidad de estos constituyentes presentes en los gránulos, además el mayor rendimiento de almidón recuperado se obtuvo mediante este método. Por lo tanto, este método se puede considerar como una buena alternativa para obtener la mayor cantidad de almidón a nivel laboratorio. Respecto a los estudios de SEM se observó que los gránulos de almidón de maíz tienen básicamente una forma poliédrica, de igual manera se observó que el cuarto método de aislamiento fue el método que presentó más gránulos de almidón dañados. Los estudios de DSC determinaron que la extracción de almidón por diferentes métodos influye sobre la temperatura de gelatinización del almidón de maíz, ya que no necesitan una elevada cantidad de calor para gelatinizar. En cuanto al ΔH , en general los valores estuvieron dentro de lo reportado para los almidones obtenidos de este cereal.

I. INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays* L) pertenece a la familia de las *Gramineae*, es la planta más domesticada y evolucionada del reino vegetal. Originaria del continente americano, su cultivo se ha extendido a todo el mundo. Es usado para la fabricación de tortillas, harinas nixtamalizadas, botanas, bebidas fermentables, una gran cantidad de platillos y para el aislamiento de almidón.

Dentro de la composición química del maíz, el almidón es el principal constituyente, alcanzando niveles de 80-84% del peso total del grano en base seca. El almidón es el principal carbohidrato de reserva sintetizado por plantas superiores, constituyendo una fuente de energía principalmente para el hombre. Químicamente, el almidón consiste de una fracción lineal llamada amilosa y una fracción ramificada llamada amilopectina. El almidón es un excelente material en la modificación de textura, apariencia y consistencia de alimentos.

Las principales fuentes de almidón usadas por el hombre son los cereales, con un contenido aproximado del 30 al 80%. Aproximadamente el 83% de la producción mundial se obtiene del maíz. En México este cultivo ocupa el primer lugar, además es de gran importancia económica ya que a nivel mundial ocupa el tercer lugar después del trigo y el arroz. El estado de Sinaloa se ha caracterizado por ser año con año uno de los principales productores de maíz en el país.

Comúnmente, cuando el almidón es investigado, el paso inicial es su aislamiento, el cual debe lograrse sin que haya una modificación significativa en su composición química, propiedades fisicoquímicas y primordialmente obtener un alto rendimiento de almidón sin dañarlo. Uno de los procesos tradicionales para la obtención de almidón es mediante la llamada molienda húmeda.

Debido a que el almidón es el principal constituyente del maíz, y que además, es ampliamente producido en el país. Es importante mejorar o desarrollar metodologías alternas para su aislamiento, que presenten altos rendimientos y que produzcan el menor daño posible a su estructura. El objetivo del presente estudio fue caracterizar morfológica y térmicamente almidón de maíz obtenido por diferentes métodos de aislamiento.

II. ANTECEDENTES

1. Maíz

1.1 Origen

El maíz (*Zea mays* L) es originario del continente americano, la evidencia arqueológica más antigua sobre la existencia de este cereal indica que tiene aproximadamente 5000 años de antigüedad. Representaciones de la planta de maíz o sus partes en esculturas, códices, cerámicas prehistóricas, así como estudios a fósiles encontrados, indican que el maíz tuvo su origen geográfico en la República Mexicana, específicamente en el valle de Tehuacán, Puebla y al norte del estado de Oaxaca. También indican que en México ocurrió su domesticación y posterior dispersión a otras regiones del continente, hacia el norte hasta Canadá y hacia el sur hasta Argentina. A finales del siglo XV, tras el descubrimiento del continente americano por Cristóbal Colón, el grano fue introducido en Europa a través de España (Anónimo 2007a; Pandey 1998; Reyes 1990).

Evidencia arqueológica y molecular (botánica, genética y citología) reportan que el maíz, tal y como lo conocemos en la actualidad evolucionó de un progenitor silvestre que existió hace 8000 años. Se cree que el progenitor silvestre extinto del maíz fue el teocintle, el cual fue domesticado al sur de México hace aproximadamente 6600 o 9000 años. En la actualidad el origen botánico del maíz gira en torno a dos hipótesis: la primera hace referencia a que el teocintle es el antecesor silvestre del maíz, y/o un tipo primitivo de teocintle es el antecesor silvestre común del maíz y del mismo teocintle; la segunda versión asegura que el maíz es un híbrido natural entre el teocintle y una *Gramíneae* afín ya extinta, la cual se caracterizaba por ser una planta que producía el grano en forma de espiga (Anónimo 2007a; Buckler y col 2006; Galindat 1995; Matsuoka y col 2002; Paredes y Saharópulos 1983; Reyes 1990).

La variedad y evolución del maíz se produjo en dos etapas: la primera fue de domesticación, en la cual otras civilizaciones a parte de las mesoamericanas, accedieron más fácilmente a la obtención de esta *Gramíneae*; la segunda etapa que fue de mejoramiento, tuvo como objetivo central mejorar el rendimiento, calidad del grano y su rápida adaptación al ecosistema. Las migraciones humanas, las mutaciones, la selección natural o artificial, el aislamiento y la endogamia, el cruzamiento entre variedades diferentes; facilitaron encontrar cultivos de maíz por todo el continente americano y prácticamente en todo el mundo (Anónimo 2007b; Bush y col 1989; Jaenicke y col 2003; Portillo y col 1995).

1.2 Clasificación taxonómica

El maíz (*Zea mays* L), pertenece a la familia de las *Gramíneae* (Tabla1), subfamilia *Panicoideae*, y tribu *Andropogoneae*; la cual incluye siete distintos géneros: *Zea* (como el teocintle), *Tripsacum* (conocidas como arrocillo o maicillo), *Coix*, *Chionachne*, *Sclerchne*, *Polytoxa* y *Trilobachne* (Paliwal y col 2001; Pandey 1998).

1.3 Estructura del grano de maíz

El grano de maíz (Figura 1) maduro, es un fruto (cariópside) compuesto por cuatro partes principales: pedicelo, pericarpio (cáscara o salvado), endospermo y germen o embrión (Watson 1987; Wolf y col 1952a, b, c, d).

1) Pedicelo: es la estructura celular mediante la cual el grano se encuentra unido al olote. Esta compuesto de haces vasculares que terminan en la porción basal del pericarpio, consta de una capa exterior de abscisión con la función de sellar la punta del grano maduro. A esta capa le sigue una serie de células parenquimatosas en forma de estrella, unidas entre si por medio de sus puntas formando una estructura frágil y porosa. El pedicelo constituye un 0.8% del peso total del grano (Watson 1987; Wolf y col 1952a).

Tabla 1. Clasificación taxonómica del maíz.

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	
Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Liliopsida</i>
Subclase:	<i>Commelinidae</i>
Orden:	<i>Poales</i>
Familia:	<i>Poaceae (Gramíneae)</i>
Subfamilia:	<i>Panicoideae</i>
Tribu:	<i>Andropogoneae</i>
Género:	<i>Zea</i>
Especie	<i>Z. mays</i>
Nombre científico	
<i>Zea mays</i> L	
(Tomada de Anónimo 2008a).	

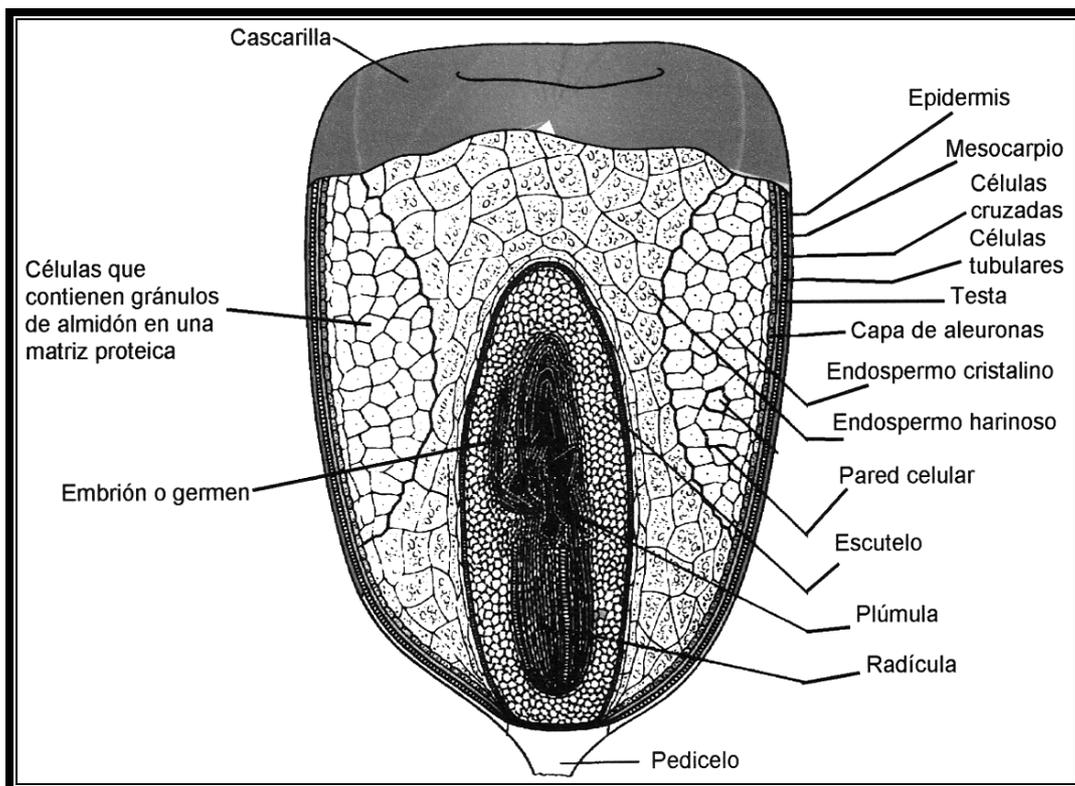


Figura 1. Estructura del grano de maíz (Tomada de Hosney y Faubion 1992).

2) Pericarpio: capa exterior dura y fibrosa que encierra al grano. Comprende el pericarpio, la testa y la cofia, en un pequeño casquete que cubre la punta del grano y protege al embrión. El grosor del pericarpio es menor en la parte central y mayor en la base del mismo. En el cereal ya maduro, tiene la función de impedir el ingreso de hongos y bacterias. Todos los componentes del pericarpio constituyen aproximadamente un 5.3% del peso total del grano. El pericarpio esta constituido en su gran mayoría de fibra (Miranda 1976; Watson 1987; Wolf y col 1952b).

3) Endospermo: constituye la mayor proporción del grano con aproximadamente un 80-84% del peso total. Funciona como reserva energética a la planta durante su desarrollo. Está compuesto de dos regiones: una harinosa y una córnea; donde generalmente la relación harinosa/córnea es de 2:1. La región harinosa del endospermo se caracteriza por tener células con gránulos de almidón grandes (10-30 μm), esféricos y una capa delgada de matriz proteica; en la región periférica o córnea se encuentran células con gránulos de almidón más pequeños (1-10 μm). Químicamente el endospermo esta compuesto por 90% de almidón y 7% en proteínas acompañadas de aceites, minerales y otros compuestos (Watson 1987; Wolf y col 1952c).

4) Germen: aporta un 9.5-12% del peso total del grano y se localiza en la parte inferior del mismo. Posee dos partes destacables, el eje embrionario y el escutelo. El escutelo constituye cerca del 90% del germen y es donde se almacenan los nutrientes que utiliza el grano durante la germinación. Químicamente el germen esta compuesto por aproximadamente un 35-40% del contenido total de lípidos encontrados en el grano (Hernández 2005; Watson 1987; Wolf y col 1952d).

1.4 Composición química del grano de maíz

La composición química de los cereales (Tabla 2) es bastante homogénea. El componente más abundante es el almidón (40-70%), de ahí su alto valor

Tabla 2. Composición química de diferentes cereales ^a.

COMPONENTES	Trigo	Centeno	Maíz	Cebada	Avena	Arroz	Mijo
Agua	13.2	13.7	12.5	11.7	13.0	13.1	12.1
Proteína	11.7	11.6	9.2	10.6	12.6	7.4	10.6
Lípidos	2.2	1.7	3.8	2.1	5.7	2.4	4.1
Almidón	59.2	52.4	62.6	52.2	40.1	70.4	64.4
Otros HCO ^b	10.1	16.6	8.4	19.6	22.8	5.0	6.3
Fibra cruda	2.0	2.1	2.2	1.6	1.6	0.7	1.1
Minerales	1.5	1.9	1.3	2.3	2.9	1.2	1.6

(Tomada de Astiasarán y Martínez 1999).

a= Expresado en %.

b= HCO: Hidratos de Carbono.

alimenticio; ya sea para consumo humano y/o consumo animal. En la composición química del grano de maíz se distinguen otros componentes como son: lípidos (1-5%), cenizas (1-3%), fibra (1-2%) y proteínas (9-12%), siendo este último el segundo componente más abundante (Astiasarán y Martínez 1999).

Las proteínas no se encuentran distribuidas (Tabla 3) de manera uniforme dentro del grano de maíz, aproximadamente el 80% son de almacenamiento y de reserva. Estas pueden extraerse con una sucesión de disolventes según sus propiedades de solubilidad, de acuerdo a lo propuesto por Osborne en 1924 (Bemiller y col 1984). Las albúminas y las globulinas, se disuelven rápidamente en agua y soluciones salinas, respectivamente. Las prolaminas, se localizan en el endospermo. Esta fracción proteica adquiere distintos nombres según el cereal, en el maíz se llama Zeína. Las glutelinas son proteínas estructurales del endospermo, es la fracción proteica más difícil de extraer por su alto peso molecular, y su alto número de enlaces disulfuro. Para eliminar a estas proteínas es necesario remojar en soluciones alcalinas (Bemiller y col 1984; Serna 2001).

Particularmente la composición química del grano de maíz, depende de varios factores como las condiciones de cultivo, temperatura, variedad y tipo de maíz, contenido de nutrientes, entre otros (Cowieson 2005; Herrera y col 1990).

La composición química entre las principales partes del grano de maíz difiere considerablemente (Tabla 4). El pericarpio se caracteriza por su alto contenido en fibra (86%), la que a su vez está formada fundamentalmente por hemicelulosa, celulosa y lignina. El endospermo contiene un nivel elevado de almidón (87%) y aproximadamente un 8% de proteínas, con un contenido relativamente bajo en lípidos. Por último, el germen se caracteriza por su elevado contenido en lípidos (33%), un nivel de proteínas próximo al 20% y 10.5% de minerales (Burge y Duensing 1989; Watson 1987).

Tabla 3. Proteínas presentes en el grano de maíz.

Proteína /Nombre	Proporción	Solubilidad
Albúmina	4-5	Agua; coagulables al calor
Globulina	5-6	Soluciones salinas; insolubles a altas concentraciones salinas
Prolamina (Zeína)	50-55	Alcohol al 70%
Glutelinas	30-45	Soluciones diluidas de ácidos y bases

(Tomada de Bemiller y col 1984).

Tabla 4. Composición química de las partes del grano de maíz ^a.

COMPONENTES	Pericarpio	Endospermo	Germen	Total
Proteínas	3.7	8.0	18.4	9.91
Lípidos	1.0	0.8	33.2	4.78
Fibra cruda	86.7	2.7	8.8	2.66
Cenizas	0.8	0.3	10.5	1.42
Almidón	7.3	87.6	8.3	71.5
Azúcar	0.34	0.62	10.8	2.58

(Tomada de Watson 1987).

a= Expresado como % en base seca.

1.5 Producción

El maíz, es uno de los tres cereales que dominan la economía mundial de granos, los otros dos son el trigo y el arroz (FAO 2004). En el 2006, la producción mundial de arroz, maíz y trigo fue de 634MMt, 695MMt y 605MMt, respectivamente; demostrando así, que el cultivo de maíz es el más abundante a nivel mundial. Por otro lado, México (Tabla 5) destacó ese mismo año ocupando el 4º lugar a nivel mundial con una producción de 21MMt (Anónimo 2008b).

En México, el cultivo de maíz se realiza en prácticamente toda la República Mexicana, durante el 2006 se distinguieron cinco principales estados, los cuales contribuyeron con el mayor porcentaje del total de maíz cultivado durante ese año. Encontramos de esta manera a Sinaloa considerado el primer productor (4,398,420.47 Ton) en la zona norte, el segundo lugar lo ocupa Jalisco (3,030,253.97 Ton) en la zona del bajío, al Estado de México (1,801,330.91 Ton) ocupando el tercer sitio en la zona centro; Chiapas (1,592,173.64 Ton) el cuarto y en quinto lugar Michoacán (1,405,551.12 Ton). Este aspecto refleja la enorme concentración geográfica que existe en el cultivo de este cereal (Anónimo 2008c).

1.6 Usos del maíz

La importancia que guarda el maíz en la industria es fundamental, los avances tecnológicos han permitido aprovecharlo como una materia prima de gran importancia para la industria básica que se encarga de procesarlo tal como se obtiene del sector primario y que se dedica a la producción de artículos que posteriormente son utilizados como insumos de la industria complementaria o como productos para consumo final. Por otro lado, la industria complementaria depende de la básica y se caracteriza por la obtención de un producto final hasta su comercialización (Portillo y col 1995).

Tabla 5. Principales países productores de maíz en el 2006.

PAÍS	Área de cosechada	Rendimiento por hectárea (kg/ha)	Producción-Cantidad (1000 toneladas)
USA	28590000.00	9359.85	267598000.00
China	27143000.00	5365.10	145625000.00
Brasil	12602652.00	3382.78	42631977.00
México	7337937.00	2966.05	21764652.00
India	7590000.00	1938.08	14710000.00
Argentina	2447166.00	5902.97	14445538.00
Francia	1502719.00	8585.62	12901769.00
Indonesia	3346427.00	3469.57	11610646.00
Italia	1107997.00	8728.55	9671206.00
Rumania	2512944.00	3575.38	8984729.00

(Tomada de Anónimo 2008b).

En países desarrollados, el principal uso del grano de maíz es para la alimentación animal; alcanzando hasta un 90% del consumo total. No obstante, en países en vías de desarrollo tales como México, la utilización de este grano para consumo humano es de aproximadamente un 63% y el resto es utilizado para diversos usos industriales y agrícolas (Anónimo 2008d; Watson 1987).

En México el sistema agroindustrial del maíz se encuentra clasificado de la siguiente manera (Portillo y col 1995):

1) Fabricación de tortillas.

2) Molienda de nixtamal.

3) Industria para la fabricación de harina de maíz nixtamalizado.

4) Fabricación de almidones, féculas, levaduras y productos similares, que incluyen los siguientes 16 productos (insumos de las industrias química, papelera, farmacéutica, panificadora, entre otras): 1. Glucosa, 2. Glucosa sólida, 3. Color caramelo, 4. Almidón sin modificar, 5. Almidón modificado, 6. Dextrina, 7. Almidón pregelatinizado, 8. Féculas de maíz (maicena), 9. Miel de maíz, 10. Aceite refinado, 11. Salvado preparado, 12. Pasta de germen, 13. Gluten de maíz, 14. Agua de cocimiento, 15. Ácido graso de maíz, y 16. Dextrosa.

5) Frituras de maíz (palomitas, fritos de maíz, golosinas, entre otros).

6) Hojuelas de maíz (corn flakes).

Las tres primeras clases de industrias integran la industria de la tortilla; que es la que mayor cantidad de maíz consume con aproximadamente un 71.3%. Por su parte, la industria que se dedica a la fabricación de derivados (almidones, féculas, levadura y productos similares) participa con el 6.1% (Portillo y col 1995), el resto esta conformado por otros derivados como piensos y forrajes para alimentación animal, detergentes, explosivos, fotografías y películas plásticas, insecticidas, etanol, alcohol industrializado, aditivos para gasolina, bebidas

alcohólicas, entre otros. Se estima que más de 800 productos que utiliza la humanidad son derivados del maíz (Portillo y col 1995; Reyes 1990).

2. Almidón

El almidón es un carbohidrato de reserva, sintetizado y almacenado como fuente de energía en plantas superiores; además después de la celulosa, es el segundo hidrato de carbono más abundante en la biosfera. Aunque el contenido de almidón varía según la fuente de obtención, la más importante son los cereales (maíz, arroz, trigo) con un contenido aproximado de 30-80%, en leguminosas (fríjol, chícharo, haba) un 25-50% y en tubérculos (papa, tapioca, yuca,) representa un 60-90% de la materia seca. De la producción mundial de almidón aproximadamente el 83% es obtenido del maíz; después la fuente más importante es el trigo con un 7%, papa con un 6% y tapioca con el 4% (De Baere 1999; Bello y Paredes 1999; Bernal y Martínez 2006; Biliaderis 1991a; Buléon y col 1998).

En las últimas décadas, la investigación realizada a este carbohidrato es con la finalidad de encontrarle nuevos usos. Básicamente puede ser usado para cuatro propósitos generales (Bello y col 2000; Bernal y Martínez 2006; Delville y col 2002; Guzmán 1992; Steven 1995; Thomas y Atwell 1999):

1) Conferir ciertas características organolépticas a los alimentos como textura y consistencia, la cual es dada por sus componentes poliméricos de alto peso molecular. La cantidad y tipo de almidón utilizado se convierten en puntos críticos para obtener las características organolépticas deseables.

2) Para la nutrición humana y/o animal, ya que es la fuente de energía más importante, representa el 80% de la ingesta calórica mundial. También para producir edulcorantes de alta intensidad y sustitutos de grasas, ya que este tipo de productos son utilizados en la elaboración de alimentos bajos en calorías.

3) Para ciertas aplicaciones industriales como la fabricación de pegamentos, pinturas, espesantes y texturizantes en las industrias del papel y textil.

4) En la producción de bioenergéticos (bioetanol).

Dentro del ámbito ecológico, el almidón empieza a ser fundamental para la fabricación de plásticos biodegradables, también se ha planteado su uso como material encapsulante de sustancias como proteínas, sabores y olores para su posterior liberación dentro de un producto alimenticio o farmacéutico (Doane 1994; Jane y col 1992; Qi y Xu 1999; Zhao y Whistler 1994a, b).

2.1 Composición química del almidón

Químicamente, el almidón es un polisacárido semicristalino compuesto por D-glucopiranosas unidas entre si mediante enlaces glucosídicos. El almidón esta formado por dos polímeros de diferente estructura (amilosa y amilopectina), los cuales se diferencian por las uniones que presentan dentro del gránulo de almidón y que además representan cerca del 98-99% del peso en seco. La proporción de estos dos polímeros varía según la fuente botánica y su organización física dentro de la estructura granular, confiriéndole propiedades fisicoquímicas y funcionales únicas (Tabla 6). A pesar de la química simple del almidón, las moléculas que lo conforman son variables y complejas (Biliaderis 1991a; Cowieson 2005; Tester y col 2004).

2.1.1 Amilosa

La amilosa (Figura 2), es un polímero lineal formado por D-glucopiranosas que se encuentran unidas entre si por enlaces α -(1-4) que representan un 99% de su estructura; también se ha comprobado la presencia de ciertas ramificaciones unidas por enlaces α -(1-6). Dichas ramificaciones se encuentran de manera espaciada e infrecuente, lo que permite observar su comportamiento esencialmente lineal (Biliaderis 1998; Buléon y col 1998; Mua and Jackson 1997), tiene una masa molar aproximada de 10^5 - 10^6 kDa, un grado de polimerización

Tabla 6. Propiedades fisicoquímicas de los componentes del almidón.

PROPIEDAD	Amilosa	Amilopectina
Estructura molecular	Lineal	Ramificada
Longitud promedio de cadena	10^3 Da	20-25 Da
Grado de polimerización	10^3 Da	$10^4 - 10^5$ Da
Complejo con yodo	Azul (650 nm)	Púrpura (550 nm)
Afinidad de yodo	19-20%	1%
Valor azul	1.4	0.05
Estabilidad en solución acuosa	Retrograda fácilmente	Estable
Hidrólisis con β -amilasa	70%	55-60%
Hidrólisis con α -amilasa y dextrinaza	100%	100%
Propiedades de película	Fuerte	Quebradiza

(Tomada de Biliaderis 1991a).

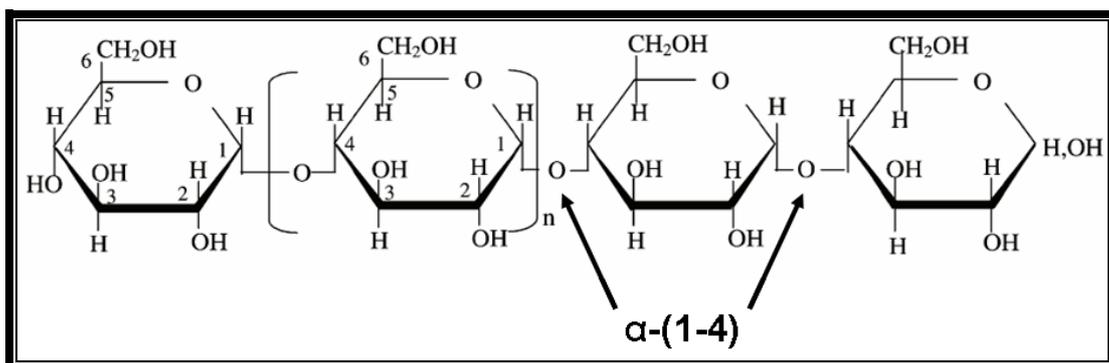


Figura 2. Estructura química de la amilosa (Tomada de Tester y Karkalas 2002).

(GP, número de unidades de glucosa que se encuentran unidas en una cadena) por número (GP_n) de 324-4920 con alrededor de 9 a 20 puntos de ramificación equivalentes a 3-11 cadenas por molécula. Cada cadena contiene aproximadamente 200 o 700 residuos de D-glucopiranosas (Gallant y Bouchet 1986; Tester y col 2004).

Por su contenido en amilosa, los almidones pueden ser clasificados en diferentes grupos como son los almidones cerosos (waxy) que tienen muy poca cantidad de amilosa, alrededor de 1-2%; los normales que contienen entre 17-24% de amilosa y los altos en amilosa que contienen 70% o más de este polímero (Moore y col 1984).

La naturaleza lineal, flexible y de gran longitud de la cadena de amilosa, le confiere la capacidad de enrollarse formando una estructura helicoidal (Figura 6) con seis unidades de D-glucopiranososa por giro, de esta forma dentro de la hélice se propicia un entorno hidrofóbico, con la capacidad de formar complejos con yodo, alcoholes o ácidos orgánicos (Morrison 1995; Tang y col 2002). Se ha considerado que las regiones helicoidales son relativamente rígidas y se presentan de 10 a 15 giros por región (Whistler y Daniel 1984).

2.1.2 Amilopectina

La amilopectina (Figura 3), es un polímero semicristalino y altamente ramificado, formado por aproximadamente 595,238 unidades de D-glucopiranosas unidas mediante enlaces α -(1-4) que representan un 92-96%; con puntos de ramificación unidos mediante enlaces α -(1-6) que representan un 5-6% de su estructura. Dichas ramificaciones se localizan aproximadamente cada 15 o 25 unidades de D-glucopiranosas, aunque el rango puede excederse a 19 o 31 unidades dependiendo del contenido de amilosa en el almidón (Biliaderis 1998; Mua y Jackson 1997; Tang y col 2002).

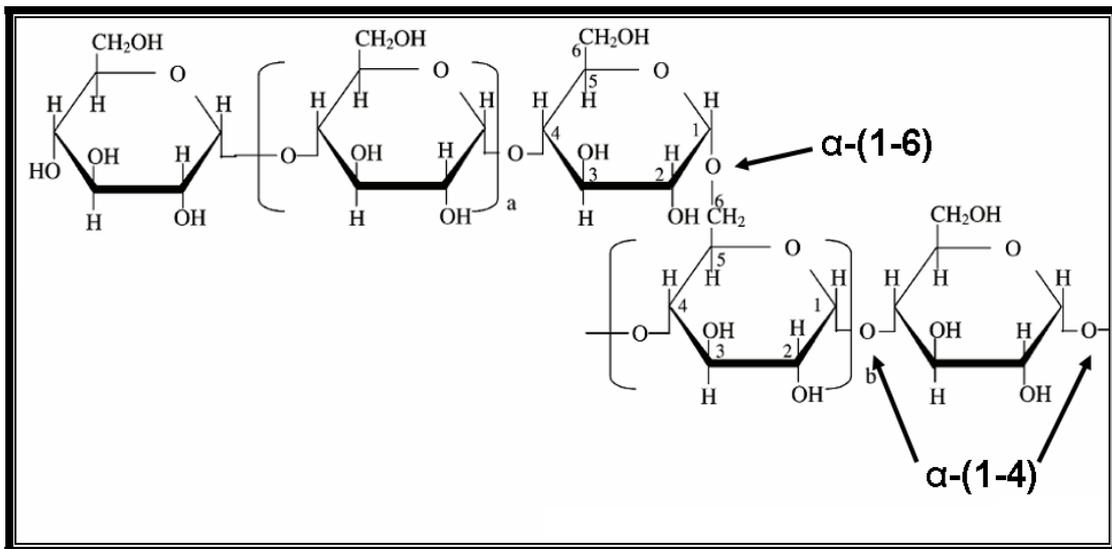


Figura 3. Estructura química de la amilopectina (Tomada de Tester y Karkalas 2002).

La amilopectina tiene un peso molecular mucho mayor que la amilosa, alrededor de 10^7 - 10^9 kDa (Buléon y col 1998; Morrison y Karkalas 1990; Thompson 2000). Dependiendo de la fuente botánica, la amilopectina es el principal componente en la mayoría de los almidones (70-80%), alcanzando en ciertos casos, niveles de hasta 98-99% en los almidones tipo cerosos (Eerlingen y Delcour 1995).

El GP_n esta típicamente en el intervalo de 9600-15900 pero comprende tres especies predominantes con GP_n de 13400-26500, 4400-8400 y 700-2100. La amilopectina esta compuesta (Figura 4) de cadenas A o cadenas cortas, con un GP de 15 a 20, cadenas B o cadenas largas con un GP entre 40-50, aunque en diversos almidones pueden alcanzar valores mayores hasta de 80 y un grupo reductor o cadena C (Buléon y col 1998; Tester y col 2004).

2.2 Amilosa y amilopectina en el gránulo de almidón

El almidón esta organizado en partículas discretas conocidas como gránulos, cuya morfología, composición química y estructura molecular (arreglo relativo de las macromoléculas en estado sólido), son distintas de una especie a otra.

Debido a que la amilopectina es el componente más abundante en el almidón, este polímero es responsable de que el granulo presente (Hoseney y col 1986; Tang y col 2002):

1) Una estructura organizada en forma de anillos (Figura 5), las moléculas de amilopectina se alinean a lo largo de un eje imaginario que se extiende desde el hilio (punto de origen) del gránulo hasta el exterior del mismo.

2) Cierta propiedad semicristalina formando así dos regiones (Figura 5); una cristalina y otra amorfa, que dan al gránulo su característica de birrefringencia,

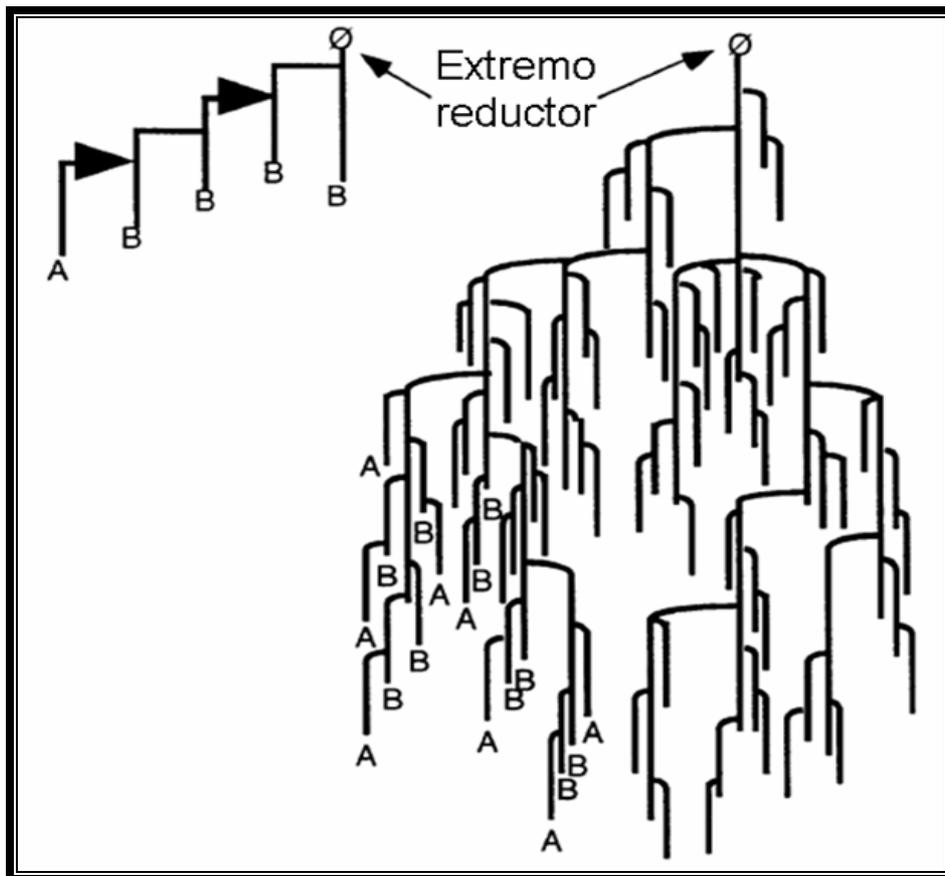


Figura 4. Diagrama de la estructura molecular de las cadenas de amilopectina (Tomada de Buléon y col 1998).

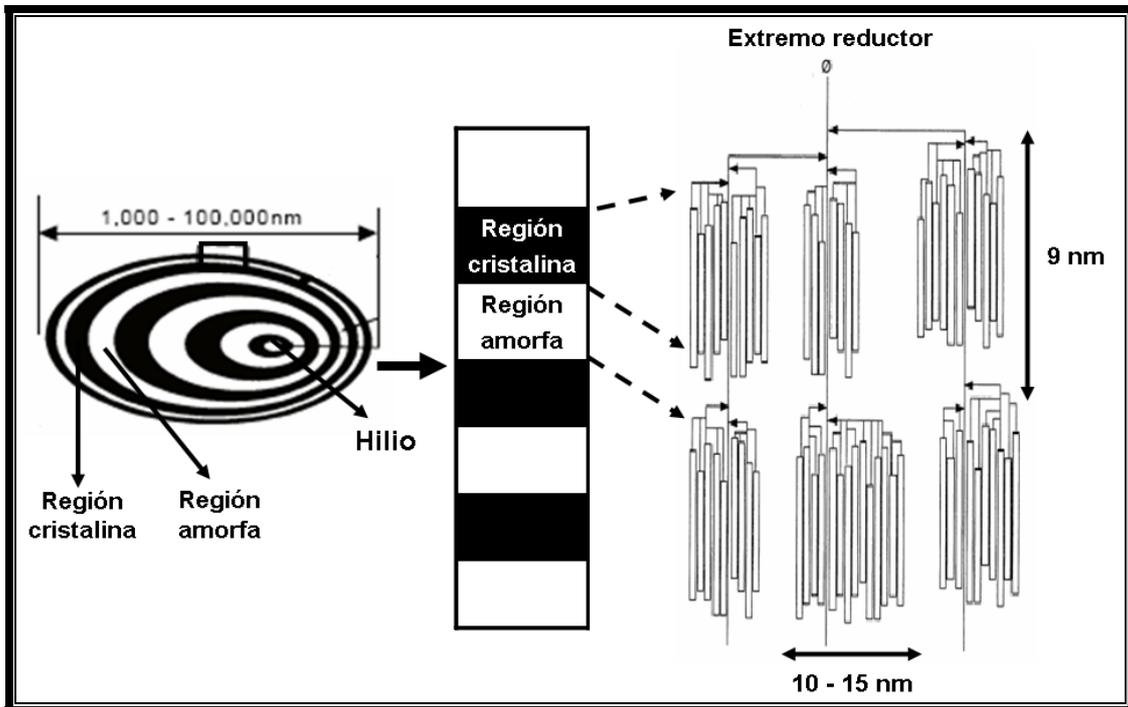


Figura 5. Estructura del gránulo de almidón (Tomada de Bernal y Martínez 2006; Tester y Debon 2000).

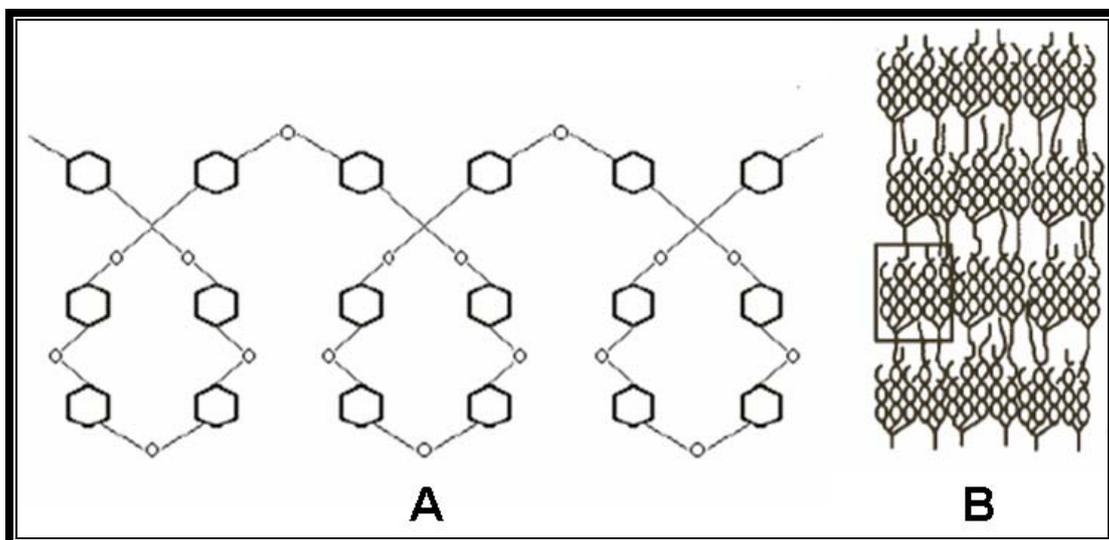


Figura 6. Estructura helicoidal de la amilosa (A) y estructura en racimos de la amilopectina (B) (Tomada de Thomas y Atwell 1999; Smith y col 1997).

fenómeno conocido como la cruz de malta. La región cristalina está formada por cadenas de amilopectina estructuradas en racimos, mientras que la región amorfa esta formada por puntos ramificados entre la amilopectina y la amilosa.

French (1972), propuso un modelo, el cual describe que la amilopectina se encuentra en racimos (Figura 6) dentro del gránulo de almidón. Esto originaba que las regiones cristalinas y amorfas, se organizaran en forma alternada. Las cadenas se organizan en dobles hélices, las cuales tienen una longitud aproximada de 9 nm de largo. Las regiones amorfas, se presentan a intervalos de 2-4 nm y contienen la mayor cantidad de enlaces α -(1-6), siendo relativamente susceptibles a agentes hidrolíticos, mientras que la región cristalina compuesta por moléculas de amilopectina en forma de racimos tiene 5-7 nm de diámetro y 10-15 nm de longitud (Blennow y col 2002; Manners 1989).

Cuando los gránulos se extraen y se secan, tienen la apariencia de un polvo blanco y presentan la propiedad de ser insolubles en agua fría. De forma general, presentan una composición química (Tabla 7) con bajos contenidos en proteínas, cenizas, lípidos y el resto lo conforma el almidón propiamente dicho. Estos constituyentes en muchas ocasiones definen ciertas propiedades funcionales, por lo cual, la estructura del almidón necesita ser estudiada a dos niveles distintos: 1) a nivel molecular, se refiere a la cantidad, estructura fina, forma y tamaño de las moléculas que lo conforman y 2) a nivel de estructura supermolecular del gránulo (Biliaderis 1991a; Guilbot y Mercier 1985).

2.3 Proteínas en el gránulo de almidón

Además de amilosa y amilopectina, los gránulos de almidón contienen otros componentes minoritarios como son proteínas, lípidos y minerales. De estos, las proteínas y lípidos son los más abundantes y tecnológicamente importantes (Bemiller y col 1984; Swinkels 1985).

Tabla 7. Composición química de gránulos de almidón ^a.

FUENTE	Humedad	Carbohidratos	Proteínas* ^b	Lípidos*	Cenizas*
Arroz	15	83.15	0.45	0.8	0.5
Maíz	13	85.92	0.35	0.6	0.1
Trigo	14	84.59	0.4	0.8	0.15
Sorgo	13	85.92	0.3	0.7	0.08
Papa	19	80.41	0.06	0.05	0.4
Tapioca	13	86.59	0.1	0.1	0.2
Amaranto	6	92.10	0.1	0.4	1.4
Plátano	12.6	80.27	2.03	2.2	1.3

(Tomada de Paredes y col 1990; Pérez 1997; Tomas y Atwell 1999).

a= Expresado en %.

b= N x 6.25

* En base seca

Las proteínas son compuestos de alto peso molecular que se encuentran asociados al gránulo de almidón, se pueden dividir en dos grandes categorías: 1) proteínas de almacenamiento, las cuales permanecen unidas indirectamente a la superficie del gránulo, son solubles en agua y 2) proteínas asociadas al gránulo de almidón, están unidas a la superficie del gránulo de almidón y/o conforman su estructura interna (Borén y col 2004).

2.4 Aislamiento de almidón

En toda investigación realizada para almidón, el paso más importante es su aislamiento, el cual debe lograrse sin que haya una modificación significativa de su estructura y que este sea obtenido en cantidades suficientes para permitir su análisis. Los diferentes procesos de aislamiento a nivel laboratorio e industrial, son diseñados y adaptados dependiendo de la fuente de obtención (cereales, frutas, tubérculos, raíces); con la finalidad de no afectar la composición química, las propiedades físicas y obtener un alto rendimiento de almidón nativo sin dañarlo. Los procesos para la extracción de almidón a partir de cereales son denominados de molienda húmeda. El grano es remojado en soluciones con diversos compuestos químicos, que tienen la finalidad de impedir el crecimiento de microorganismos y romper la matriz proteica que esta íntimamente ligada con los gránulos de almidón. Además, se usa agua como vehículo para lograr la conducción, separación y purificación de este importante carbohidrato (Ji y col 2004; Serna 2001).

2.4.1 Molienda húmeda para la producción de almidón de maíz

Antes de iniciar el proceso de molienda húmeda, los granos de maíz atraviesan un proceso de limpieza mecánica donde se quita todo material no deseado, como pedazos de mazorca, ramas y cáscaras, así como harina y piedras. Un aspirado remueve paja y desempolva los granos, y los electroimanes quitan pedazos de metal que pudiera contener (Bemiller y col 1984).

El macerado o remojo, es el paso más importante del proceso ya que con este da inicio la molienda húmeda. Durante esta etapa, los granos de maíz con una humedad inicial de 12-14% son remojados de 30 a 40 h, a una temperatura de 48-52 °C, con la finalidad de que el grano absorba paulatinamente agua con dióxido de azufre (SO₂) hasta un 45-50%; los granos con textura suave o harinosa tienden absorber agua rápidamente. El SO₂ presente y aunado a la actividad de las bacterias del genero *Lactobacillus* que se generan, suavizan la estructura del grano, impiden su germinación, hidrolizan enlaces disulfuro (-SS-) de la matriz proteica debilitando su estructura interna que rodea y retiene a los gránulos de almidón y se solubiliza 5-7% de los sólidos, constituidos primordialmente por proteínas del germen (albúminas y globulinas), ácido láctico, minerales, ácido fítico y vitaminas hidrosolubles del complejo B. El agua utilizada en esta etapa, por lo general una mezcla de vapor condensado y agua desmineralizada, se utilizan para evitar que el almidón se hidrolíce por el pH elevado que se genera (Bemiller y col 1984; Serna 2001).

Con los granos de maíz acondicionados y modificados a través del tratamiento azufrado y bacteriano, se inicia el proceso de “de-germinación”, en este paso la mayor parte del germen es liberado de manera integra ya que se tendría el riesgo de liberar lípidos, los cuales seria absorbidos en su mayoría por el gluten dificultando su extracción. Más de la mitad del almidón y gluten está siendo liberado en esta etapa. El resultado de la molienda es recuperado mediante hidrociclones para separar al germen de la mezcla de fibra, almidón y gluten, tomando en cuenta la densidad de las distintas fracciones obtenidas (Bemiller y col 1984; Serna 2001).

Una vez que se tiene separado al germen, se procede a realizar una molienda al endospermo con la finalidad de obtener partículas más finas. Mediante tamizado, se logra separar el almidón que deriva principalmente del endospermo harinoso y gluten del material fibroso; el almidón que resta de las piezas más grandes de fibra es recuperado de manera más eficiente por lavado. En este

punto, el producto principal contiene almidón, gluten y material orgánico soluble. La baja densidad de las partículas de gluten hidratado (1.1g/cm^3), en comparación con el almidón (1.5g/cm^3) facilitan su separación por centrifugación, generalmente en 2 fases: 1) en la parte superior una capa color amarillo correspondiente al gluten, con 60-70% de proteínas y 2) por otro lado una capa blanca perteneciente al almidón, el cual es lavado y filtrado para quitar cualquier residuo de gluten que halla quedado. Una segunda centrifugación ayuda a que el contenido final de proteína alcance un nivel de 0.38% en base seca. Finalmente el almidón se deshidrata mediante la inyección del producto húmedo en un secador con corriente de aire caliente (Bemiller y col 1984).

3. Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Una gran variedad de microscopios y técnicas de imágenes han sido usadas para estudiar y documentar la microestructura de los gránulos de almidón en cereales y los cambios durante su procesamiento (McDonough y Rooney 1999). Mediante este tipo de técnicas se ha observado que las proteínas forman una matriz que envuelve a los almidones, así como también la formación de aglomerados proteicos irregulares que se encuentran intercalados en los gránulos de almidón, en algunas ocasiones se pueden observar estructuras filamentosas características de las estructuras fibrosas (Hoseney 1998).

Existen diferentes tipos de microscopia como la microscopia electrónica de transmisión (TEM), la microscopia electrónica de barrido ambiental (ESEM) y la microscopia electrónica de barrido (SEM). Esta dos últimas, son las más utilizadas ya que nos permiten una mayor apreciación de la superficie del gránulo y su morfología en general, la cual esta relacionada directamente a la fuente botánica (Tabla 8) a partir de la cual son aislados los almidones (Chmelik 2001).

Tabla 8. Características de los gránulos de almidón de diferentes fuentes botánicas.

ALMIDÓN	Tipo	Forma	Distribución	Tamaño
Cebada	Cereal	Lenticular (Tipo A)	Bimodal	15-25
		Esférica (Tipo B)		2-5
Maíz (ceroso y normal)	Cereal	Esférica/poliédrica	Unimodal	2-30
Amilomaíz	Cereal	Irregular	Unimodal	2-30
Mijo	Cereal	Poliédrica	Unimodal	4-12
Avena	Cereal	Poliédrica	Unimodal	3-10 (simple)
				80 (compuesto)
Chícharo	Leguminosa	Rentiform (simple)	Unimodal	5-10
Papa	Tubérculo	Lenticular	Unimodal	5-100
Arroz	Cereal	Poliédrica	Unimodal	3-8 (simple)
				150 (compuesto)
Centeno	Cereal	Lenticular (Tipo A)	Bimodal	10-40
		Esférica (Tipo B)		5-10
Sorgo	Cereal	Esférica	Unimodal	5-20
Tapioca	Raíz	Esférica/lenticular	Unimodal	5-45
Triticale	Cereal	Esférica	Unimodal	1-30
Sago	Cereal	Ovalada	Unimodal	20-40
Trigo	Cereal	Lenticular (Tipo A)	Bimodal	15-35
		Esférica (Tipo B)		2-10

(Tomada de Tester y Karkalas 2002).

La necesaria ausencia de volátiles para preservar el vacío en la SEM obliga a las muestras hidratadas a ser deshidratadas, para posteriormente ser recubiertas con oro y ser observadas al microscopio. Esto puede provocar diversos eventos químicos y fisicoquímicos que modifiquen la microestructura de la muestra durante su preparación (Crozet, 1977).

Podemos encontrar gránulos con forma ovalada, redonda, esférica, lenticular, poligonal e incluso formas irregulares. Su tamaño es de aproximadamente 1-100 μm de diámetro. Los gránulos a partir de 1-20 μm se consideran pequeños y de 20-100 μm como largos. La distribución de los gránulos usualmente se clasifica como unimodal y bimodal. Una distribución de tamaño bimodal se caracteriza por poseer gránulos largos y pequeños en una misma fuente botánica, mientras que la clasificación unimodal solamente posee un solo tamaño. Esta distribución ha hecho que se clasifique a los gránulos de almidón como tipo A, que usualmente son mayores a 10 μm de diámetro y tienen formas redondas o lenticulares y los gránulos tipo B, que por lo general son menores a 10 μm de diámetro, con formas esféricas o poligonales (Buléon y col 1998; Fredriksson y col 1998; Gallant y Bouchet 1986; Han y col 2002; Jacobs y Delcour 1998; Lindeboom y col 2004; Morrison y Karkalas 1990; Singh y col 2003; Swinkels 1985; Tester y Karkalas 2002; Zobel y Stephen 1996).

4. Cambios hidrotérmicos producidos en el almidón

4.1 Gelatinización

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, pero se hidratan al calentarse en un medio acuoso, a este proceso se le conoce como gelatinización. Esto origina la pérdida del orden molecular (colapso molecular) que se manifiesta dentro del gránulo, cambia de una forma semicristalina a una forma eventualmente amorfa (Biliaderis y col 1980; Tester y Debon 2000).

La gelatinización total del gránulo (Figura 7) se produce normalmente dentro de un intervalo amplio de temperatura. Se ha postulado (Biliaderis 1991b) que son tres los procesos que constituyen a este fenómeno. Estos procesos son eventos fuera del equilibrio que a su vez resultan en los fenómenos meta-estables de gelatinización, gelación y retrogradación del almidón. Estos eventos son: a) difusión del agua dentro del gránulo de almidón; cuando empieza a absorber agua, los puentes de hidrógeno de la región amorfa se rompen permitiendo que el agua se asocie con los grupos hidroxilos libres, b) fusión de la región amorfa; se caracteriza por una transición hélice-enrollamiento al azar que es facilitada por la hidratación, las cadenas de amilosa se difunden en medio acuoso y tienen una mayor movilización molecular dentro del gránulo, en este punto el hinchamiento es reversible (Camire y col 1990; Tester y Debon 2000) y las propiedades ópticas del gránulo no se pierden, por ejemplo la birrefringencia, y c) desintegración de las zonas cristalinas cuando el calentamiento es continuo; en este punto el hinchamiento llega a ser irreversible debido a la disociación de las dobles hélices propias de la región cristalina (amilopectina) hasta que finalmente se pierde su estructura (Lai y Kokini 1991). La amilosa fuera del gránulo forma una malla tridimensional y produce un gel (Biliaderis 1991a; Hosney y col 1986).

Los geles obtenidos una vez que el almidón ha sufrido la gelatinización, presentan diversas propiedades las cuales van a depender del contenido de amilosa y amilopectina (Leloup y col 1990; Tester y Debon 2000). La temperatura a la cual ocurre este proceso se le conoce como temperatura de gelatinización (T_g).

Cuando la cantidad de agua es limitada, no ocurre una gelatinización completa en el intervalo usual de temperatura; sin embargo, conforme la temperatura se incrementa las regiones cristalinas se funden (Slade y Levine, 1991; Tester y Debon 2000).

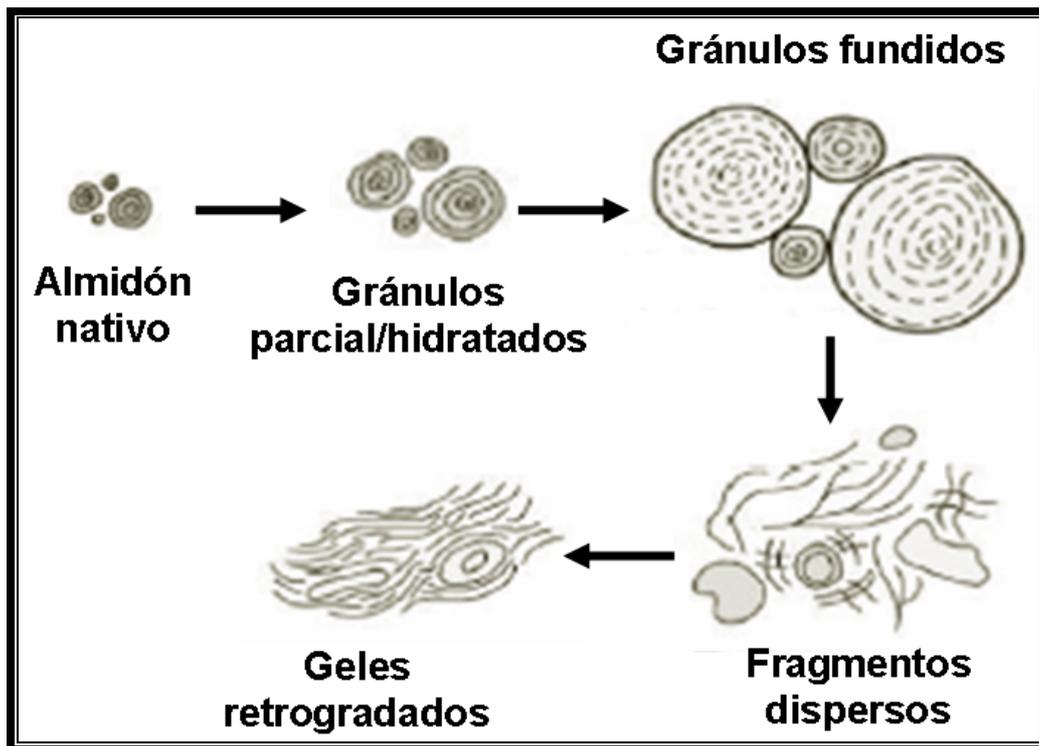


Figura 7. Representación esquemática de los cambios en el almidón durante el calentamiento en exceso de agua (Tomado de Rooney y Huang 2001).

El proceso de gelatinización puede estar influenciado por diversos factores (tiempo, temperatura, humedad, almacenamiento y/o preparación del material), por ello se utilizan diferentes técnicas para su investigación como: punto final de birrefringencia, viscosidad, difracción de rayos-X, valoración azul del complejo amilosa/yodo, digestibilidad enzimática, resonancia magnética nuclear, entre otras como la calorimetría diferencial de barrido (DSC), que es una de las técnicas más empleadas (Biliaderis y col 1980; Calceta y Suarez 2001; Fukuoka y col 2002; Jacobs y Delcour 1998; Ojeda y col 2000).

4.2 Retrogradación

El término retrogradación, ha sido utilizado para describir los cambios que ocurren cuando las moléculas de almidón gelatinizado empiezan a reorganizarse (Figura 7), formando una o más estructuras ordenadas, es decir pasan de un estado inicial amorfo a un estado final más cristalino, se puede ver como el fenómeno opuesto a la gelatinización. La retrogradación es un proceso complejo y depende de muchos factores, como el tipo y concentración de almidón, regímenes de cocimiento y enfriamiento, pH y la presencia de solutos como lípidos, sales, azúcares (Biliaderis 1991a; Biliaderis y col 1980; Cowieson 2005; Gudmundsson 1994; Liu y Thompson 1998).

El proceso de retrogradación consiste en dos etapas: 1) la gelación de las cadenas de amilosa que son exudadas del gránulo durante la gelatinización y 2) la recristalización de la amilopectina (Biliaderis 1991a). Se ha visto que la retrogradación o cristalización de geles de almidón a corto plazo, se atribuye a la gelación y cristalización de la fracción de amilosa (Jacobs y Delcour 1998; Sievert y Wursch 1993) y los cambios que ocurren a largo plazo durante el almacenamiento de geles de almidón, a la fracción de amilopectina, esto puede ser debido a la magnitud de su estructura, a temperatura ambiente la vida promedio de su recristalización es de 2 a 10 días (Singh y col 2007).

La formación de estos cristales viene acompañada por un incremento gradual en la rigidez y la separación de fases entre el polímero y el solvente (sinéresis). La presencia de cristales influye en la textura, digestibilidad y aceptación de los productos con base en almidón por parte del consumidor (Rooney y Huang 2001; Tester y Debon 2000).

Este fenómeno ocurre en geles de almidón o en productos horneados, fritos o extrudidos, donde las moléculas de almidón interactúan después del añejamiento (Tester y Debon, 2000). La retrogradación del almidón o el endurecimiento de los productos, es más lento cuando el contenido de humedad es mayor.

5. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los métodos calorimétricos se han aplicado extensivamente en el estudio de la estructura y las transiciones de fase del almidón. El término calorimetría diferencial de barrido (DSC) se confundía inicialmente con el análisis diferencial térmico (ADT), técnica pionera en el análisis térmico. El propósito de estos instrumentos térmicos diferenciales es registrar la diferencia entre el cambio de entalpía que ocurre en una muestra y un material inerte de referencia cuando ambos se calientan. Los instrumentos térmicos diferenciales se clasifican en: ADT clásico, ADT Boersma y DSC. En los dos primeros la muestra y la referencia se calientan utilizando una sola fuente de calor y la temperatura se mide por termocuplas que se localizan dentro del recipiente (ADT clásico) o acopladas a la superficie exterior del recipiente (ADT Boersma) (Lund 1983; Tester y Debon 2000).

En la DSC, la muestra y la referencia son calentadas y enfriadas a la misma velocidad, es decir, la energía absorbida dentro de cada una esta sujeto a un programa de temperatura controlada, por lo que se pueden medir directamente los cambios de flujo de calor asociados con transiciones de primer orden y segundo orden (Lund 1983).

Los datos obtenidos de las transiciones, se registran en una endoterma (pico) que relaciona el flujo calórico como una función de la temperatura cuando se lleva a cabo la gelatinización del almidón, en ese momento el equipo suministra más calor a la referencia para equilibrar el sistema. El pico endotérmico se relaciona con la temperatura promedio a la cual se lleva acabo la gelatinización, este parámetro se conoce también como temperatura de pico (T_p) o de gelatinización (T_g). El área dentro de la curva, es la medida de la entalpía de transición (ΔH), es decir, el calor necesario para llevar a cabo la gelatinización del almidón (Eliasson 1994; McKenzie, 1970). Estos resultados, proporcionan información acerca del orden-desorden de las moléculas dentro del sistema (Biliaderis y Zawistowski 1990).

5.1 Aplicación de la DSC en alimentos

La DSC puede usarse para detectar dos tipos de transiciones: 1) las transiciones de primer orden son transiciones de fusión y 2) las de segundo orden son de cristalización. Las transiciones de fusión son para monitorear cambios como desnaturalización de proteínas, gelatinización de almidón y fusión de cristales de grasa. Las transiciones de cristalización son de utilidad para caracterizar gránulos de almidón. Principalmente, la calorimetría diferencial de barrido (DSC) se ha utilizado para estudiar los biopolímeros presentes en los alimentos (proteínas, almidón y grasa).

La desnaturalización térmica de proteínas puede ser detectada como un pico endotérmico en los termogramas obtenidos, ya que la ruptura de enlaces intramoleculares de hidrogeno es una reacción endotérmica. Por otro lado, la ruptura y agregación de interacciones hidrofóbicas, son reacciones exotérmicas y pueden afectar la determinación de la entalpia total.

Sin embargo, el área bajo la curva de transición ofrece un estimado de la energía térmica requerida para desnaturalizar la proteína. En el caso del almidón, la DSC ha revelado la naturaleza biopolimérica de los gránulos de almidón y su comportamiento como biopolímero vítreo parcialmente cristalino.

La DSC, puede utilizarse para estudiar los efectos de la molienda y aditivos en el comportamiento de la gelatinización, así como cualquier factor que afecte este fenómeno. También se utiliza para monitorear la retrogradación, ya que cuando la muestra es calentada, ocurre una ruptura de los enlaces intramoleculares de hidrógeno que están manteniendo a la estructura cristalina del almidón retrogradado, lo que trae consigo un cambio de energía en el sistema, que es registrada como una transición endotérmica.

III. OBJETIVOS

1. Objetivo general

Caracterizar morfológica y térmicamente almidón de maíz (*Zea Mays L*) obtenido por diferentes métodos de aislamiento.

2. Objetivos específicos

1) Aislar almidón de maíz utilizando cuatro distintos métodos.

2) Determinar el porcentaje de almidón extraído para cada uno de los métodos de aislamiento empleados.

3) Determinar la composición química para cada uno de los almidones obtenidos.

4) Determinar la morfología de cada uno de los almidones obtenidos mediante microscopia electrónica de barrido (SEM).

5) Determinar la temperatura de gelatinización para cada uno de los almidones obtenidos mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

1. Materiales

1.1 Materia prima

El maíz que se utilizó para el aislamiento de almidón, fue donado por la empresa SACSA de la ciudad de Navolato, Sinaloa.

1.2 Reactivos

Todos los reactivos que se utilizaron en este experimento fueron grado analítico de la marca J.T.Baker (USA).

2. Métodos

2.1 Obtención de la harina de maíz

Los granos de maíz fueron molidos utilizando un molino de cuchillas marca Wiley Mini Mill (Modelo 3383-L10) con una malla 40 U.S., la harina obtenida se guardó en frascos de vidrio a temperatura de refrigeración hasta su posterior uso.

2.2 Aislamiento del almidón

En este experimento, el aislamiento de almidón de maíz se llevó a cabo utilizando cuatro métodos diferentes, los cuales se describen con detalle a continuación.

2.2.1 Método 1

La harina de maíz se remojó en 500 mL de agua destilada durante 24 h. Después de este tiempo la harina húmeda se molió en una licuadora casera marca Oster (Modelo BPSTO2-B) a máxima velocidad por 2 minutos. La suspensión se tamizó en mallas 100 (0.150 mm) y 200 (0.075 mm) U.S., los residuos fueron lavados con agua destilada hasta que el líquido obtenido presentara un color transparente, es decir hasta que el líquido de salida no tuviera aparentemente residuos de almidón. La suspensión obtenida se centrifugó en una ultracentrífuga marca Beckman Coulter (Modelo Óptima XL-100K) a 29774 g por 20 minutos y se descartó el sobrenadante. Se formaron dos fases sólidas, la superior de color gris (compuesta por proteína, lípidos y gránulos de almidón pequeños que no alcanzaron a separarse) y la inferior de color blanco (almidón), la cual se resuspendió en agua destilada.

El almidón se lavó con agua destilada tres veces y nuevamente se centrifugó bajo las condiciones ya mencionadas. Finalmente el almidón se secó en una estufa con recirculación de aire marca ShelLab (Modelo CE5F) a 40-43 °C por 24 h, se molió, se pesó y se almacenó en un frasco de vidrio hasta su uso.

2.2.2 Método 2

Se empleó el procedimiento reportado por Wang y Wang (2001), empleando las modificaciones reportadas por Wang y Wang en el 2004. La harina de maíz se remojó en 500 mL de NaOH al 0.1% durante 18 h. Después de este tiempo la harina húmeda se molió en una licuadora casera (Modelo BPSTO2-B) a máxima velocidad por 2 minutos. La suspensión se tamizó en mallas 100 (0.150mm) y 200 (0.075mm) U.S., los residuos fueron lavados con agua destilada hasta que el líquido obtenido presentará un color transparente, es decir hasta que el líquido de salida no tuviera aparentemente residuos de almidón. La suspensión obtenida se centrifugó en una ultracentrífuga marca Beckman Coulter (Modelo Óptima XL-

100K) a 1400 g por 10 minutos y se descartó el sobrenadante. Se formaron dos fases sólidas, la superior de color gris (compuesta por proteína, lípidos y gránulos de almidón pequeños que no alcanzaron a separarse) y la inferior de color blanco (almidón), la cual se resuspendió en agua destilada.

El almidón se neutralizó con HCl a 1.0 M hasta alcanzar un pH final de 6.5. El almidón neutralizado se lavó con agua destilada tres veces y nuevamente se centrifugó bajo las condiciones ya mencionadas. Finalmente el almidón se secó en una estufa con recirculación de aire marca ShellLab (Modelo CE5F) a 40-43 °C por 24 h, se molió, se pesó y se almacenó en un frasco de vidrio hasta su uso.

2.2.3 Método 3

Se empleó la técnica para extracción de proteínas utilizada por Hu y Essen (1981), modificado inicialmente por Kwon y col (1996), y finalmente por Ahmed y col en el 2008. La harina de maíz se remojó en agua destilada (en relación 1:10, p/v) a 25 °C por 16 h. Después de ese tiempo la harina húmeda se molió en una licuadora casera (Modelo BPSTO2-B) a máxima velocidad por 5 minutos. La suspensión se tamizó en mallas 100 (0.150mm) y 200 (0.075mm) U.S., los residuos fueron lavados con agua destilada hasta que el líquido obtenido presentara un color transparente, es decir hasta que el líquido de salida no tuviera aparentemente residuos de almidón. La suspensión obtenida se centrifugó en una ultracentrífuga marca Beckman Coulter (Modelo Óptima XL-100K) a 13233 g por 30 minutos y se descartó el sobrenadante. Se formaron dos fases sólidas, la superior de color gris (compuesta por proteína, lípidos y gránulos de almidón pequeños que no alcanzaron a separarse) y la inferior de color blanco (almidón) con la cual se realizó una extracción secuencial con diferentes solventes, se usó NaCl al 0.5 M, NaOH al 0.1 M, etanol al 70% y ácido acético al 50% (en relación 1:10, p/v, con cada solvente), cada uno de ellos por 1 h. Cada solvente se descartó por centrifugación bajo las condiciones ya mencionadas.

El almidón se lavó con agua destilada tres veces y nuevamente se centrifugó bajo las condiciones ya mencionadas. Finalmente el almidón se secó en una estufa con recirculación de aire marca ShellLab (Modelo CE5F) a 40-43 °C por 24 h, se molió, se pesó y se almacenó en un frasco de vidrio hasta su uso.

2.2.4 Método 4

Se empleó el procedimiento reportado por Adkins y Greenwood (1966), con las modificaciones propuestas por González y col (2003). Los granos de maíz se remojaron en una solución amortiguadora de acetato de sodio al 0.02 M (pH 6.5), conteniendo cloruro de mercurio al 0.01 M (en relación 1:2, p/v, con respecto a los granos de maíz) dejando en agitación por 24 h, cambiando la solución cada 12 h. Después de este tiempo los granos de maíz se lavaron con agua destilada y se molieron en una licuadora casera (Modelo BPSTO2-B) a máxima velocidad por 5 minutos. La suspensión se tamizó en mallas 100 (0.150 mm) y 200 (0.075 mm) U.S., los residuos fueron lavados con agua destilada hasta que el líquido obtenido presentara un color transparente, es decir hasta que el líquido de salida no tuviera aparentemente residuos de almidón. La suspensión obtenida se centrifugó en una ultracentrífuga marca Beckman Coulter (Modelo Óptima XL-100K) a 6573 g por 30 minutos y se descartó el sobrenadante. Se formaron dos fases sólidas, la superior de color gris (compuesta por proteína, lípidos y gránulos de almidón pequeños que no alcanzaron a separarse) y la inferior de color blanco (almidón), la cual se resuspendió y homogeneizó en una solución compuesta por NaCl al 0.1 M y tolueno (en relación 7:1, v/v), se mantuvo en agitación por 12 h. La solución de NaCl-tolueno se descartó por centrifugación bajo las condiciones ya mencionadas.

Finalmente el almidón se lavó con agua destilada tres veces, se centrifugó bajo las condiciones ya mencionadas y se secó en una estufa con recirculación de aire marca ShellLab (Modelo CE5F) a 40-43 °C por 24 h, se molió, se pesó y se almacenó en un frasco de vidrio hasta su uso.

2.3 Porcentaje de almidón recuperado

El porcentaje de almidón recuperado se determinó mediante la fórmula reportada por Ji y col (2004):

$$\% \text{ de almidón recuperado} = \frac{\text{Peso en seco del almidón recuperado} \times 100}{\text{Peso en seco de la harina o granos de maíz}}$$

2.4 Análisis proximal del almidón

2.4.1 Humedad

Se utilizó el método 925.10 de la AOAC. Se utilizaron 3 g de muestra, los cuales se colocaron en charolas de aluminio previamente puestas a peso constante, se dejaron en una estufa con recirculación de aire marca ShellLab (Modelo CE5F) a una temperatura de 130 ± 1 °C por 1 h. Por diferencia de pesos se calculó el porcentaje de humedad.

2.4.2 Cenizas

Se utilizó el método 923.03 de la AOAC. Se utilizaron 3 g de muestra, los cuales se colocaron en crisoles de porcelana previamente puestos a peso constante. Se incineró la muestra con ayuda de un mechero para eliminar la mayor cantidad de humo posible. Se calcinó en una mufla marca Fisher Scientific, Isotemp Muffle Furnace (Modelo 550-126) a una temperatura de 550 ± 3 °C hasta obtener cenizas de color blanco o gris claro. Por diferencia de pesos se calculó el porcentaje de cenizas.

2.4.3 Lípidos

Para la determinación de lípidos se utilizó un equipo marca LECO (Modelo TFE2000). Se pesó 0.4-0.5 g de muestra seca, el equipo requirió de CO₂ comprimido como disolvente. Una vez verificados (Tabla 9) todos los parámetros de funcionamiento, se inició el análisis de muestras. Por diferencia de pesos se calculó el porcentaje de lípidos.

2.4.4 Proteínas

Para la determinación de nitrógeno total se utilizó el método de combustión Dumas automatizado utilizando un equipo marca LECO (Modelo FP-528). Se peso 0.1±0.005 g de muestra seca. Para su uso, el equipo requirió los siguientes gases: aire seco comprimido, helio al 99.99 % y oxígeno al 99.99 %. Se verificó que todos los parámetros (Tabla 10) requeridos para su funcionamiento estuvieran dentro de su rango y se procedió al análisis de las muestras. Los resultados obtenidos por el equipo se expresaron como porcentaje de nitrógeno total en base seca. El factor de conversión utilizado para obtener el porcentaje de proteína fue de 5.75.

2.4.5 Carbohidratos

Para obtener un valor aproximado de la concentración de carbohidratos, se determinó en base seca el resto de los demás constituyentes al 100 %.

2.4.6 Fibra

No se determinó el contenido de fibra dietética total. El pericarpio se caracteriza por su alto contenido en fibra (86%), este componente fue retenido durante el tamizado realizado a cada método de aislamiento.

Tabla 9. Parámetros utilizados en la operación del equipo LECO TFE2000.

Parámetros	Rango de valores	Unidad
Presión	9000	psi
Temperatura	100	°C
Temperatura del HVR	100	°C
Tiempo de enfriamiento	10	min
Tiempo de extracción	45	min
Velocidad de flujo	1.3	lpm

Tabla 10. Parámetros utilizados en la operación del equipo LECO FP-528.

Parámetros	Rango de valores	Unidad
Celda de conductividad térmica	4.0,3.55 a 4.45	V
Celda de conductividad térmica	90, 88 a 92	ma
Presión del sistema	-	mm de Hg
Horno de combustión	850-825 a 875	°C
Temperatura de catálisis	750-725 a 750	°C
Control de flujo	40-38 a 42	°C
Control de enfriamiento	R	-
Temperatura de enfriamiento	2 a 10	°C

2.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Los almidones obtenidos, se secaron en una estufa ShellLab (Modelo CE5F) a 30-33 °C por 24 h. La muestra se colocó en un portamuestras de aluminio usando una cinta de carbono adherible de doble cara. Después se recubrió con oro mediante un electro-depositador marca Denton Vacuum Desk II. Finalmente se observó en un microscopio electrónico de barrido (SEM) marca JOEL (Modelo JSM-6-300) a un voltaje de 20 KV, analizando dos zonas distintas del portamuestras. Cada muestra se analizó por duplicado.

2.6 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las temperaturas y la entalpía de gelatinización de los almidones obtenidos se determinó usando un calorímetro diferencial de barrido (DSC) marca Mettler Toledo (Modelo 822E), calibrado con indio ($T_o = 156.4$ °C, $\Delta H = 28.4$ J/g). Las muestras se pesaron (entre 4-5 mg) en charolas de aluminio de 40 μ L (Mettler Toledo, ME-27331) y se les agregó agua destilada con una microjeringa en una relación 1:4 (p/v). Las charolas se sellaron herméticamente y se dejaron en reposo para que se distribuyera homogéneamente el agua por 20 minutos antes de su análisis. Se utilizó una charola de aluminio vacía como referencia. Las muestras se calentaron en un intervalo de temperatura de 25 a 95 °C a una velocidad de calentamiento de 5 °C/min. La temperatura inicial (T_o), la temperatura pico (T_p) o de gelatinización (T_g), la temperatura final (T_f) y la entalpía de transición (ΔH), se obtuvieron directamente usando el software del equipo.

2.7 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados empleando el software Statistica versión 6.0, se realizaron análisis de varianza (ANOVA) de una sola vía con un nivel de significancia del 95% ($\alpha=0.05$). Todas las muestras se analizaron al menos por duplicado.

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

1. Porcentaje de almidón recuperado

Los porcentajes de almidón de maíz recuperado se obtuvieron a partir de 250 g de grano de maíz. En la tabla 11 se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los métodos de aislamiento empleados

En la primera columna se indican los gramos de harina de maíz obtenida después de la molienda, en el caso del cuarto método se partió del grano intacto, ya que el procedimiento así lo requería. Estadísticamente solo el tercer método presentó diferencia significativa con respecto a los demás, lo cual nos indica que parte de la muestra se perdió durante la molienda del grano. La segunda columna nos muestra los gramos de harina de maíz obtenida después de la molienda pero en base seca, ya que el método para calcular el porcentaje de almidón recuperado lo requiere.

Los gramos de almidón obtenidos después de aplicar el método de aislamiento correspondiente se muestran en la tercera (base húmeda) y cuarta (base seca) columna. Estadísticamente existió diferencia significativa entre todos los métodos de aislamiento empleados. Esto indica que el proceso de molienda húmeda, principio aplicado para la extracción de almidón por cualquier método, a nivel laboratorio presentará diferentes efectos como la eficiencia para recuperar almidón, efecto que se observó en este estudio.

Finalmente, en la quinta columna se muestra el porcentaje de almidón recuperado para cada método de aislamiento empleado, estadísticamente existió diferencia significativa entre todos los métodos empleados. Esto nos indica que las condiciones de cada método repercuten directamente sobre la cantidad de almidón recuperado.

Tabla 11. Porcentaje para almidón de maíz recuperado por distintos métodos de aislamiento ^w

Muestra	Harina ^x	Harina ^y	Almidón ^x	Almidón ^y	Almidón recuperado ^z
Método 1	248.55 ± 0.21 ^a	217.80 ± 0.18	88.55 ± 8.98	77.52 ± 7.85 ^a	35.59 ± 3.57 ^a
Método 2	248.45 ± 1.06 ^a	217.71 ± 0.92	99.55 ± 13.36	89.37 ± 11.99 ^b	41.03 ± 5.33 ^b
Método 3	245.85 ± 1.20 ^b	215.43 ± 1.05	92.0 ± 5.93	83.59 ± 5.39 ^c	38.79 ± 2.31 ^c
Método 4	250.0 ± 0.00 ^a	219.07 ± 0.00	73.6 ± 5.09	65.21 ± 4.51 ^d	29.76 ± 2.05 ^d

w= Expresado en g; promedio de 2 determinaciones. Media ± Desviación estándar. Valores en la misma columna con letras diferentes presentan diferencias estadísticas al 0.05 de confidencialidad.

x= Expresado en base húmeda

y= Expresado en base seca

z= Expresado en %

2. Análisis proximal del almidón

El análisis proximal realizado para almidón de maíz obtenido por cuatro diferentes métodos de aislamiento, se muestra en la tabla 12.

El contenido de humedad se presentó en un rango de 6.79 a 8.28%, estas variaciones están asociadas a las distintas condiciones empleadas para cada uno de los métodos utilizados. Estadísticamente el segundo y tercer método de aislamiento presentaron diferencias significativas con respecto a los demás métodos empleados.

En cuanto al contenido de proteína, los almidones de maíz obtenidos con el segundo y tercer método de aislamiento presentaron valores menores a los obtenidos mediante el primer y cuarto método. Estos resultados son mayores a los reportados por Abdel-Aal y col (1997), Vasathan y Hoover (1991) y Jobling (2004), quienes reportaron un contenido de proteína para almidón de maíz de 0.55, 0.4 y 0.35%, respectivamente. Esto se atribuye a la solubilidad que presentaron las proteínas bajo las condiciones empleadas para cada método de aislamiento. Las proteínas presentes en el gránulo se encuentran ligadas a su estructura interna mediante enlaces por puente de hidrogeno y disulfuro, dificultando así su extracción, se ha reportado que dejando remojar al endospermo en una solución alcalina, se liberan fácilmente los gránulos de almidón debido a la ruptura de este tipo de enlaces (Baldwin 2001; Bemiller y col 1984).

Respecto al contenido de cenizas, los almidones presentaron un rango de 0.09 a 0.22%, estos valores son menores a lo reportado por Abdel-Aal y col (1997) y Hernández-Lauzardo y col (2004) para almidón de maíz y almidones comerciales de maíz con un contenido de cenizas de 0.52 y 0.5%, respectivamente. Estadísticamente el segundo y tercer método de aislamiento presentaron diferencia significativa con respecto al primer y cuarto método. En ocasiones, la

presencia de una alta concentración de minerales en el almidón se debe principalmente a las sales empleadas para la extracción de proteínas.

En relación al contenido de lípidos, el almidón del primer método presentó un porcentaje mayor con respecto a los demás métodos de aislamiento y a los valores reportados por Hernández-Lauzardo y col (2004), quienes reportaron un contenido de lípidos en almidones comerciales de 0.1%; Abdel-Aal y col (1997), Vasathan y Hoover (1991) y Jobling (2004), reportaron para almidón de maíz 0.1, 0.8 y 0.7%, respectivamente. Por lo general, los lípidos presentes en los gránulos de almidón son ácidos grasos libres y fosfolípidos que tienden a formar complejos amilosa-lípidos en el interior del gránulo, por ello es común utilizar solventes no polares como éter de petróleo para extraer lípidos libres y emplear solventes polares como cloroformo, metanol u algún alcohol para facilitar la extracción de lípidos ligados internamente al gránulo de almidón.

Finalmente el contenido de carbohidratos para el segundo y tercer método fue similar, sin embargo estos métodos presentaron diferencia significativa con respecto al primer y cuarto método. Estos valores nos dan una idea de la cantidad de almidón total obtenido para cada uno de los métodos empleados. El análisis estadístico para este componente se determinó utilizando los datos por triplicado del resto de los constituyentes cuantificados, con la finalidad de conocer diferencias entre los métodos utilizados.

3. Microscopia electrónica de barrido (SEM)

En las micrografías 8, 9, 10 y 11 se observan los gránulos del almidón de maíz recuperado usando cuatro distintos métodos de aislamiento. El tamaño y la forma de los gránulos, depende mucho de la fuente botánica de la cual se obtuvieron. Hablando específicamente del almidón de maíz, depende mucho de la variedad de maíz empleado (Tester y Karkalas 2002).

Tabla 12. Composición química para almidón de maíz aislado por distintos métodos ^x

Muestra	Humedad	Proteína ^y	Cenizas ^y	Lípidos ^y	Carbohidratos ^z
Método 1	7.65 ± 0.03 ^a	3.86 ± 0.43 ^a	0.09 ± 0.03 ^a	0.51 ± 0.04 ^a	95.52 ± 0.46 ^a
Método 2	8.28 ± 0.17 ^b	1.49 ± 0.55 ^b	0.18 ± 0.01 ^b	0.13 ± 0.01 ^b	98.18 ± 0.54 ^b
Método 3	6.79 ± 0.22 ^c	1.86 ± 0.11 ^b	0.22 ± 0.01 ^b	0.10 ± 0.01 ^b	97.81 ± 0.10 ^b
Método 4	7.92 ± 0.22 ^a	3.02 ± 0.24 ^c	0.09 ± 0.03 ^a	0.10 ± 0.04 ^b	96.77 ± 0.24 ^c

x= Expresado en %; promedio de 3 determinaciones. Media ± Desviación estándar. Valores en la misma columna con letras diferentes presentan diferencias estadísticas al 0.05 de confidencialidad.

y= Expresado en base seca

z= Obtenido por diferencia

En este estudio los gránulos de almidón de maíz (Figura 8-11), muestran una forma poliédrica y un tamaño aproximado de 8 a 10 μm , estas características son similares a las reportadas por Tester y Karkalas (2002), y Singh y col (2003).

Se han reportado gránulos de almidón de maíz con un tamaño que va de 8 a 20 μm (Blanshard 1987), almidones de maíz normal y ceroso (waxy) con tamaños de 2 a 30 μm y una forma esférica (Tester y col 2004). En una muestra de almidón de maíz comercial se encontró un tamaño de gránulo entre 8 y 10 μm usando microscopia electrónica de barrido (Hernández-Lauzardo y col 2004).

Los gránulos de almidón para los cuatro métodos de aislamiento, mostraron una superficie ligeramente suave, esto es similar a lo reportado por Singh y col (2003) para almidón de maíz. Esto indica que no hubo presencia de poros ni grietas. Sin embargo Sandhu y col (2004) reportan que la presencia de estas características en la superficie del gránulo se presenta en ocasiones de manera natural

Por otro lado, los gránulos de almidón del cuarto método (Figura 11) presentaron daños. Esto indica que este método de aislamiento no es tan eficiente para la obtención de almidón, ya que daña la estructura del gránulo, y por lo tanto altera sus propiedades fisicoquímicas.

4. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las temperaturas de transición (T_o , T_g , T_f) y entalpía de gelatinización (ΔH) para cada uno de los almidones de maíz obtenidos por los métodos de aislamiento empleados en este estudio, se muestran en la tabla 13.

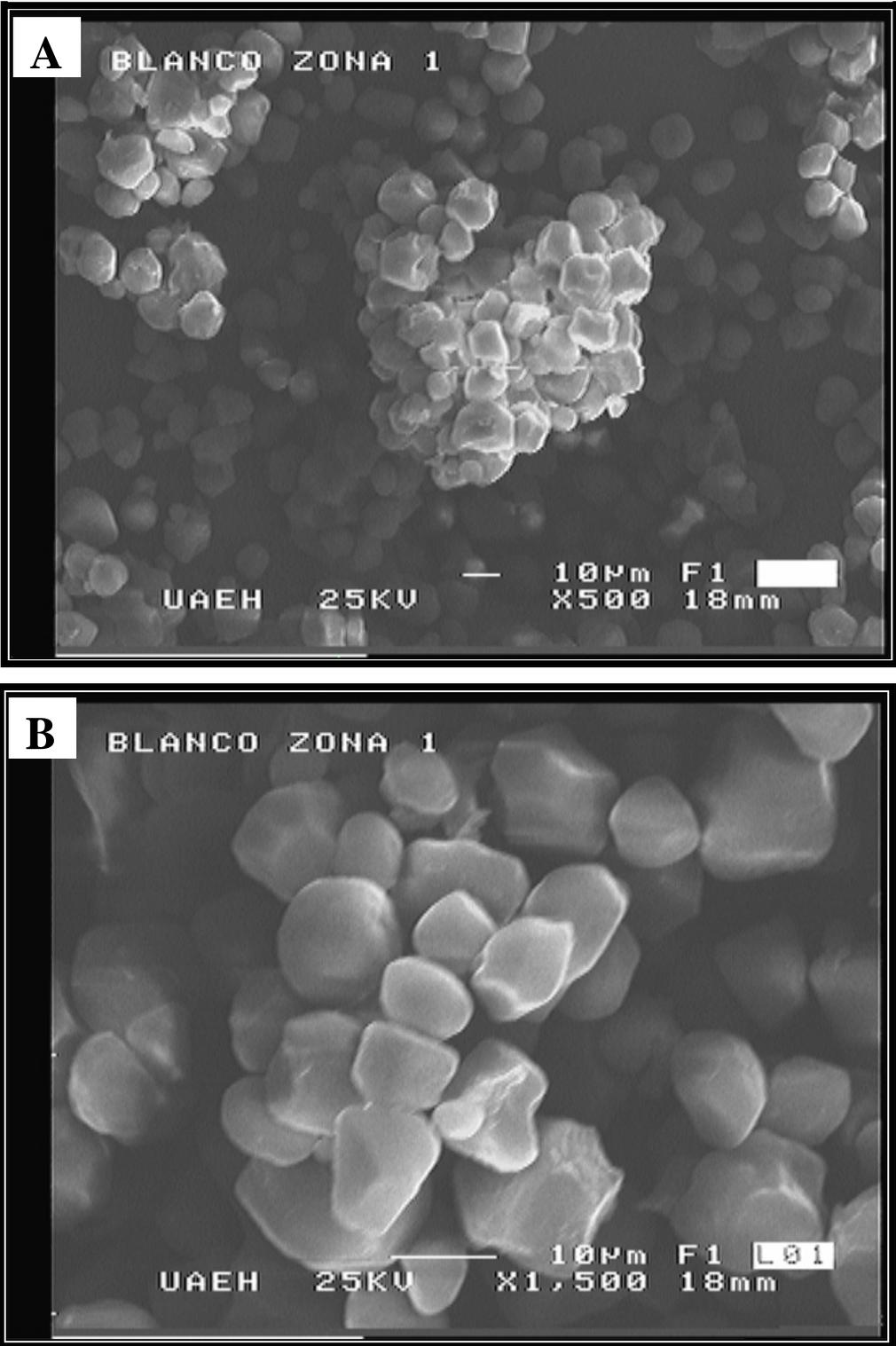


Figura 8. Micrográficas del almidón de maíz aislado por el método 1 a una amplitud de 500X (A) y 1500X (B).

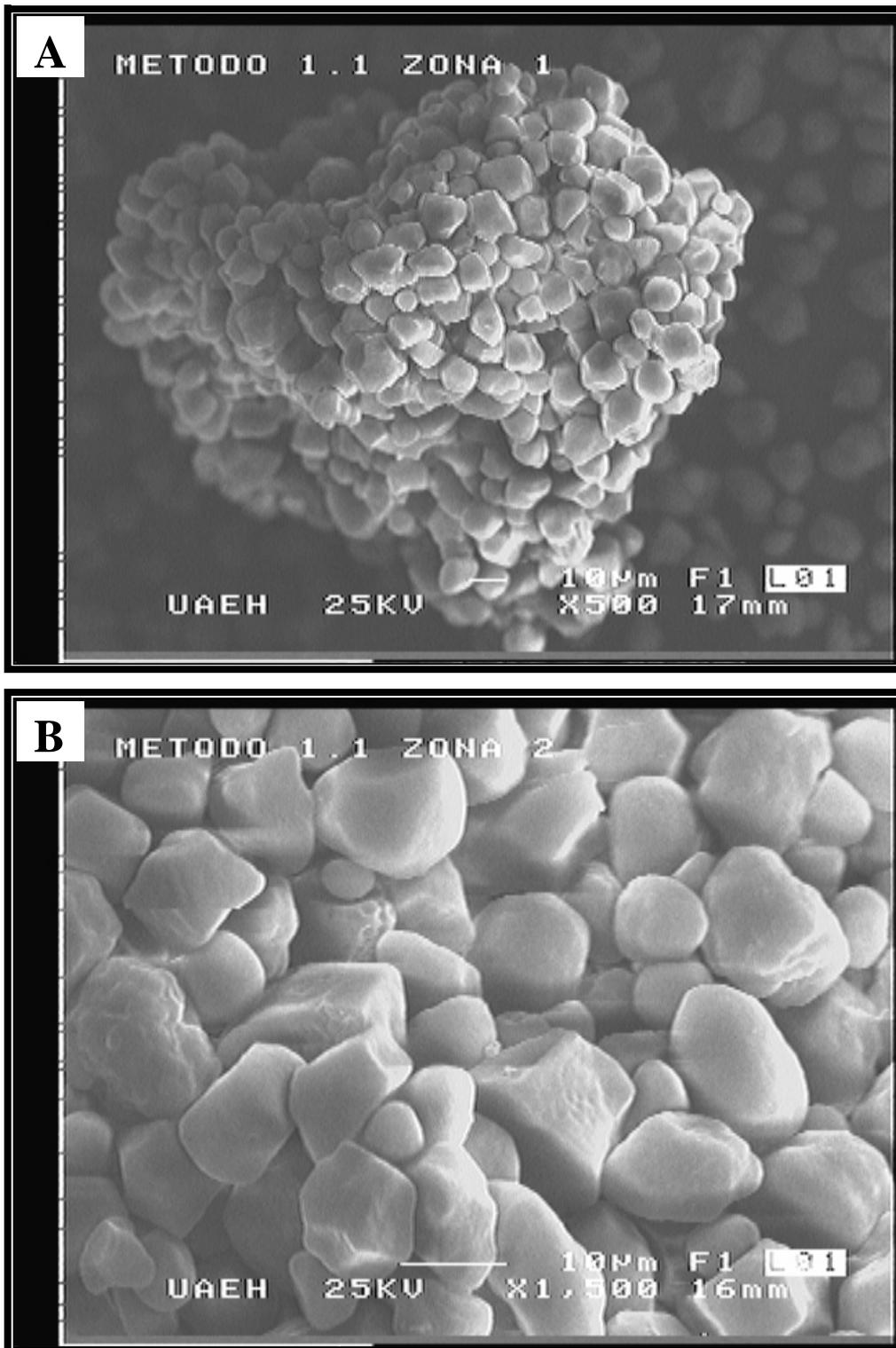


Figura 9. Micrográficas del almidón de maíz aislado por el método 2 a una amplitud de 500X (A) y 1500X (B).

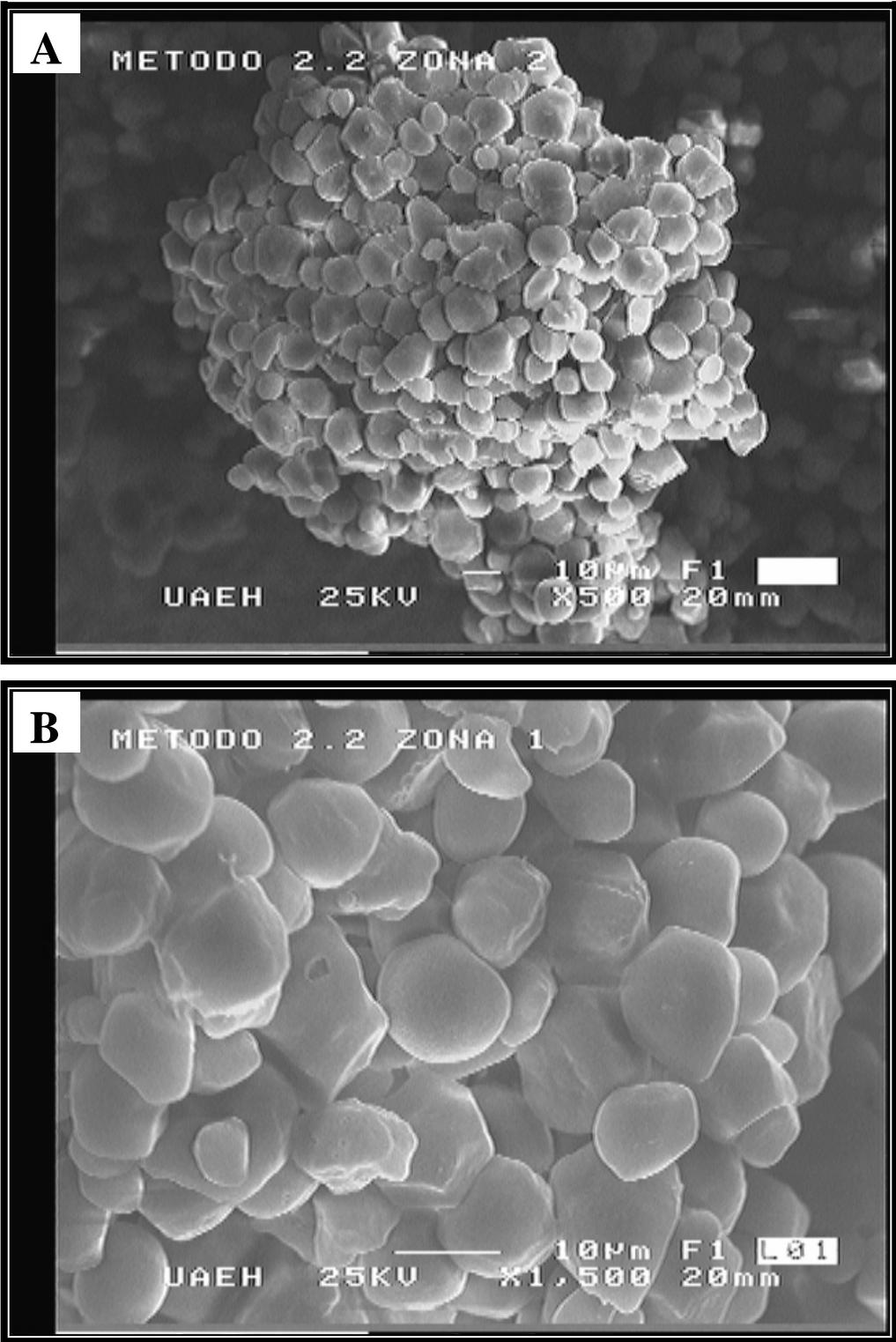


Figura 10. Micrográficas del almidón de maíz aislado por el método 3 a una amplitud de 500X (A) y 1500X (B).

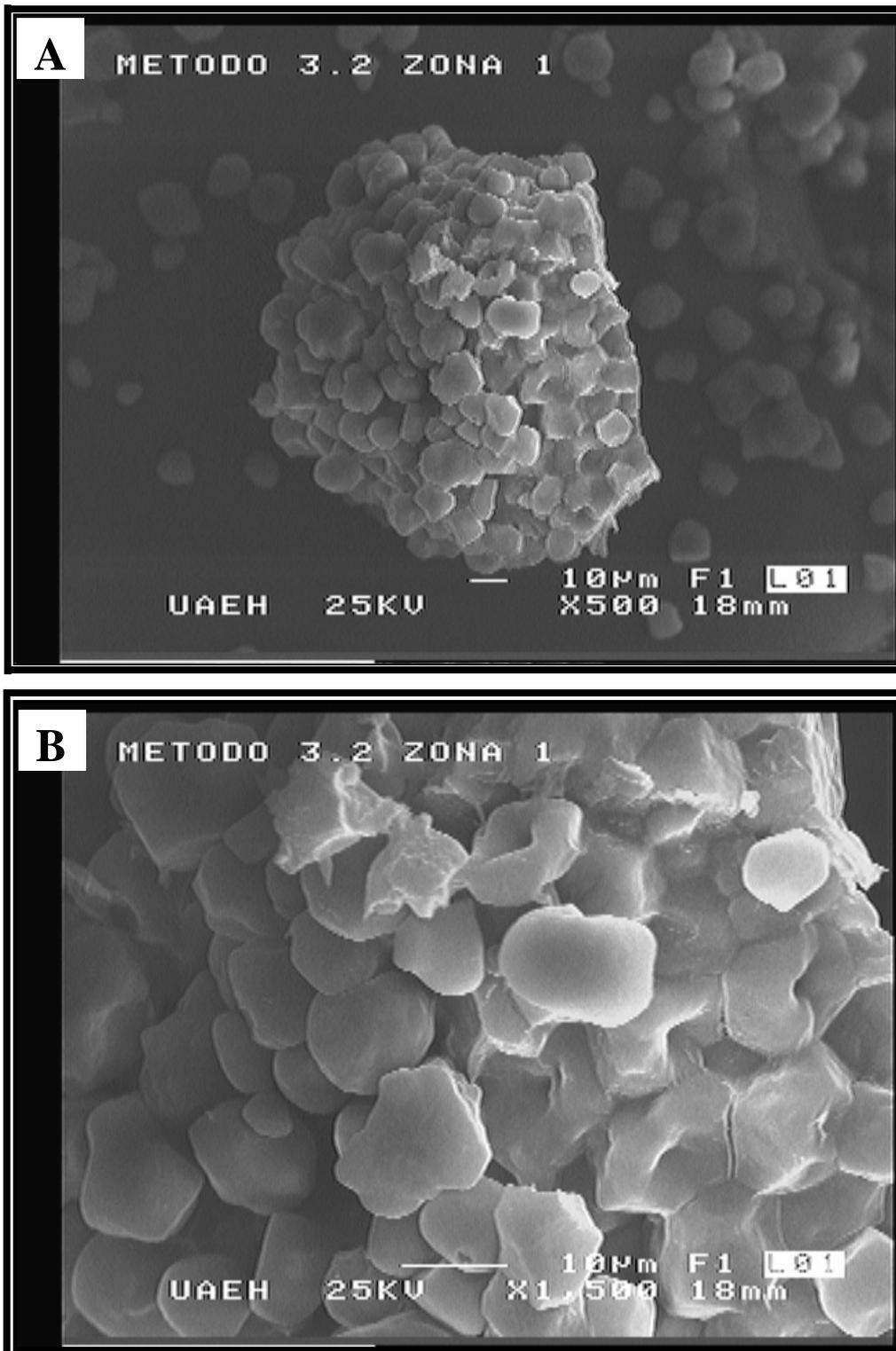


Figura 11. Micrográficas del almidón de maíz aislado por el método 4 a una amplitud de 500X (A) y 1500X (B).

Tabla 13. Temperaturas de transición y entalpía de gelatinización para almidón de maíz aislado por distintos métodos ^y

Muestra	T_o	T_g	T_f	ΔH ^z
Método 1	59.86 ± 0.34 ^{ae}	66.15 ± 0.45 ^a	71.57 ± 0.17 ^{ac}	2.23 ± 0.14 ^a
Método 2	60.59 ± 0.07 ^{bce}	66.15 ± 0.11 ^a	71.27 ± 0.06 ^{ac}	2.60 ± 0.05 ^a
Método 3	60.29 ± 0.43 ^{ace}	66.62 ± 0.06 ^b	71.93 ± 0.43 ^{ad}	2.39 ± 0.26 ^a
Método 4	58.87 ± 0.11 ^{bdf}	65.28 ± 0.13 ^c	70.62 ± 0.51 ^{bd}	2.19 ± 0.48 ^a

y= Expresado en °C; promedio de 3 determinaciones. Media ± Desviación estándar. Valores en la misma columna con letras diferentes presentan diferencias estadísticas al 0.05 de confidencialidad.

z= Expresado en J/g.

Las temperaturas de inicio y final obtenidas para los almidones de maíz aislados por cuatro distintos métodos, se encuentran por debajo a lo reportado por Sandhu y Singh (2007), quienes reportan una temperatura inicial y final para almidones a partir de diferentes variedades de maíz de 65.6 a 69 °C y 75.1 a 79.7 °C, respectivamente. Estas variaciones son influenciadas por diversos factores como son: la composición del granulo de almidón (relación amilosa: amilopectina), su estructura (relación cristalino: amorfo), forma y tamaño, la estructura molecular de la amilopectina (tamaño de los racimos, longitud de las cadenas) y el contenido de otros componentes como proteínas, lípidos y fósforo (Gunaratne y Hoover 2002, Noda y col 1996; Singh y Singh 2001; Singh y col 2004; Wang y col 2005; Yuan y col 1993).

Respecto a la temperatura de gelatinización (T_g), esta se presentó en un rango de 65.2 a 66.6 °C, temperatura por debajo a la reportado por Singh y col (2006), quienes reportaron valores de T_g para almidón de maíz nativo a 73.1 °C y en un rango de 67.8 a 71.6 °C, respectivamente. En otros estudios realizados en almidones de maíz nativo y ceroso (waxy), se presentaron valores de T_g a 71.6 °C y 71.2 °C, respectivamente (Sanders y col 1990; Yuan y col 1993), valores por encima a los reportados en este estudio. Las bajas temperaturas de gelatinización pueden ser atribuidas a que las regiones cristalinas de los gránulos de almidón sufrieron daño durante su aislamiento, esto facilitó una hidratación rápida al interior del granulo. Por consiguiente, se producen almidones con bajas T_o , ya que se necesitó de un menor gasto de energía para romper la estructura cristalina formada por un alto porcentaje de cadenas cortas de amilopectina, este efecto se percibe por un ligero incremento de la T_g con respecto a la T_o (Hernández-Uribe y col 2004; Paredes y col 1994; Sandhu y Singh 2007; Singh y col 2006).

En almidones con alto contenido de amilosa, en los cuales sus cadenas en promedio son largas, se han reportado altas temperaturas de transición (Jane y col 1992), esto por consiguiente explicaría que el almidón de maíz obtenido contiene un porcentaje de amilosa bajo y sus cadenas en promedio son cortas.

La entalpía de gelatinización (ΔH) es un indicador de la pérdida del orden molecular (región cristalina) que ocurre en el gránulo de almidón durante la gelatinización (Cardoso y col 2007; Cooke y Gidley 1992; Hoover y Vasanthan 1994). Los valores de ΔH obtenidos para almidón de maíz aislado por cuatro distintos métodos, se presentaron en un rango de 2.1 a 2.6 J/g. Estadísticamente no existió diferencia significativa entre ellos, esto indica que todos los almidones requieren energías similares para gelatinizar, estos valores están de acuerdo a lo reportado en la literatura para el almidón de maíz por Toro-Vazquez y Gómez-Aldapa (2001).

VI. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos del porcentaje de almidón recuperado, el segundo método de aislamiento presentó un rendimiento mayor con respecto a los demás métodos empleados. Por lo tanto, este método se puede considerar como una buena alternativa para obtener la mayor cantidad de almidón a nivel laboratorio.

La determinación del análisis proximal a los gránulos de almidón de maíz aislados mediante el segundo y tercer método, mostraron un contenido bajo en proteínas y lípidos, lo cual nos indica que mediante estos procedimientos se obtiene un almidón de mayor pureza, es decir, las condiciones empleadas son las adecuadas para eliminar la mayor cantidad de estos componentes presentes en el almidón.

Respecto a los estudios de microscopía electrónica de barrido (SEM), se observaron gránulos de almidón básicamente con forma poliédrica y superficie ligeramente suave. De igual manera se observó que la estructura de los gránulos de almidón obtenidos mediante el cuarto método de aislamiento sufrió más daño.

Con relación a los estudios de calorimetría diferencial de barrido (DSC), se determinó que la extracción de almidón por diferentes métodos; influye directamente sobre la temperatura de gelatinización del almidón de maíz, ya que no se necesitó una elevada cantidad de calor para que gelatinizara. En cuanto al ΔH , en general los valores estuvieron dentro de lo reportado para los almidones obtenidos de este tipo de cereal.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Abdel-Aal ESM, Hucl P y Sosulski FW. 1997.** Characteristics of Canaryseed (*Phalaris canariensis* L.). *Starch/Stärke*. 49 (12): 475-480.
- Adkins GK y Greenwood CT. 1966.** The isolation of cereal starches in the laboratory. *Starch/Stärke*. 7: 213-218.
- Ahmed J, Ramaswamy HS, Ayad A y Alli I. 2008.** Thermal and dynamic rheology of insoluble starch from basmati rice. *Food Hydrocolloids*. 22: 278-287.
- Anónimo. 2007a.** http://www.fao.org/index_es.htm. 20 de Diciembre 2007.
- Anónimo. 2007b.** <http://frama.qfb.cumich.mx>. 17 de Julio 2007.
- Anónimo. 2008a.** <http://es.wikipedia.org/wiki/Avat%C3%AD>. 15 de Enero 2008.
- Anónimo. 2008b.** <http://faostat.fao.org/>. 20 de Enero 2008.
- Anónimo. 2008c.** <http://www.siap.gob.mx/>. 20 de Febrero 2008.
- Anónimo. 2008d.** <http://www.inegi.gob.mx/inegi/default.aspx>. 20 de Febrero 2008.
- AOAC. 1990.** Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Vol II. Edited by Kenneth Helrich. 777-781, 1095-1096 pp.
- Astiazarán I y Martínez JA. 1999.** Alimentos, composición y propiedades. Madrid, España: Mc Graw- Hill, Interamericana. 137,138 pp.
- De Baere H. 1999.** Starch policy in the European community. *Starch/Stärke*. 51: 189-193.
- Baldwin PM. 2001.** Starch Granule-Associated Proteins and Polypeptides: A Review. *Starch/Stärke*. 53: 475-503.
- Bello-Pérez LA, Agama-Acevedo E, Sáyago-Ayerdi S, Moreno-Damián E y Figueroa JDC. 2000.** Some structural, physicochemical and functional studies of banana starches isolated from two varieties growing in Guerrero, México. *Starch/Stärke*. 52 (2-3): 68-73.
- Bello-Pérez LA y Paredes-López O. 1999.** El almidón: lo comemos, pero no lo conocemos. *Ciencia*. 50: 29-33.
- Bemiller JN, Paschall EF y Whistler RL. 1984.** STARCH: Chemistry and Technology. 2nd ed. San Diego: Academic Press. 432-456 pp.

-
- Bernal L y Martínez BE. 2006.** Una nueva visión de la degradación del almidón. *Revista del centro de investigación Universidad La Salle.* 7 (25): 77-90.
- Biliaderis CG. 1991a.** The structure and interactions of starch with food constituents. *Can J Physiol Pharmacol.* 69: 60-78.
- Biliaderis CG. 1991b.** Non-equilibrium phase transitions of aqueous starch systems. In: Levine H y Slade L editors. *Water relationships in foods.* New York EUA: Plenum press. 251-273 pp.
- Biliaderis CG. 1998.** Structures and phase transitions of starch polymers. In: Walter RH editor. *Polysaccharide Association Structures in Foods.* New York: Marcel Dekker. 57-168 pp.
- Biliaderis CG, Maurice TJ y Vose JR. 1980.** Starch gelatinization phenomena studied by differential scanning calorimetry. *J Food Sci.* 45: 1660-1680.
- Biliaderis CG y Zawistowski J. 1990.** Viscoelastic behavior of aging starch gels: Effects of concentration, temperature, and starch hydrolysates on network properties. *Cereal Chem.* 67 (3): 240-246.
- Blanshard JMV. 1987.** Starch granule structure and function: a physicochemical approach. In: Galliard T editor. *Starch: Properties and Potential.* Wiley, Chichester. 6-54 p.
- Blenow A, Engelsen SB, Nielsen HT, Baunsgaard L y Mikkelsen R. 2002.** Starch phosphorylation: a new front line in starch research. *Plant Science* 7 (10): 445-450.
- Borén M, Larsson H, Falk A y Jansson C. 2004.** The barley starch granule proteome-internalized granule polypeptides of the mature endosperm. *Plant Science.* 166: 617-626.
- Buckler ES, Gaut BS y McMullen MD. 2006.** Molecular and functional diversity of maize. *Plant Biology.* 9: 172-176.
- Buléon A, Colonna P, Planchot V y Ball S. 1998.** Starch granules: structure and biosynthesis. *Int J Biolog Macromol* 23: 85-112.
- Burge RM y Duensing WJ. 1989.** Processing and dietary fiber ingredient applications of corn bran. *Cereal Foods World.* 34: 535-538.

-
- Bush MB, Piperno DR y Colinvaux PA. 1989.** A 6,000 year history of Amazonian maize cultivation. *Nature*. 340: 303.
- Calceta-Resio A y Suarez C. 2001.** Gelatinization kinetics of amaranth starch. *J Food Sci Technol*. 36: 441-448.
- Camire ME, Camire A y Krumhar K. 1990.** Chemical and nutritional changes in foods during extrusion. *Food Sci Nutr*. 29 (1): 35-57.
- Cardoso MB, Putaux J, Samios D y Pesce da Silveira N. 2007.** Influence of alkali concentration on the deproteinization and/or gelatinization of rice starch. *Carbohydr Polymers*. 70: 160-165.
- Chmelik J. 2001.** Comparison of size characterization of barley starch granules determined by electron and optical microscopy, low angle laser light scattering and gravitational fieldflow fractionation. *J Inst Brewing* 107: 11–17.
- Cooke D y Gidley MJ. 1992.** Loss of crystalline and molecular order during starch gelatinization: Origin of the enthalpic transition. *Carbohydr Research*. 227: 103-112.
- Cowieson AJ. 2005.** Factors that affect the nutritional value of maize for broilers. *Animal Feed Sci Technol*. 119: 293-305.
- Crozet N. 1977.** Ultrastructure changes in wheat-flour protein fixation and embedding. *Cereal Chem*. 54:1108-1114.
- Delville J, Joly C, Dole P y Bliard C. 2002.** Solid state photocrosslinked starch bases films: a new of family of homogeneous modified starches. *Carbohydr Polymers*. 49: 71-81.
- Doane WM. 1994.** Oportunities and challenges for new industrial uses of starch. *Cereal Foods World*. 39: 556-563.
- Eliasson AC. 1994.** Interaction between starch and lipids studied by DSC. *Thermochimica Acta*. 246: 343-356.
- Erlingen RC y Delcour JA. 1995.** Formation, analysis, structure y properties of type III enzyme resistant starch. *J Cereal Sci*. 21: 1-8.
- FAO. 2004.** The state of food insecurity in the world 2004. Rome, Italy: FAO. 40 p.
- Fredriksson H, Silverio J, Andersson R, Eliasson ACA y man P. 1998.** The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinisation and retrogradation properties of different starches. *Carbohydr Polymers*. 35: 119-134.

-
- Fukuoka M, Ohta K y Watanabe H. 2002.** Determination of the terminal extent of starch gelatinization in a limited water system by DSC. *J Food Eng.* 53: 39-42.
- Galindat WC. 1995.** El origen del maíz. *Econ Bot.* 49: 3-12.
- Gallant DJ y Bouchet B. 1986.** Ultrastructure of maize starch granules: a review. *J Food Microstructure.* 5: 141-155.
- González-Reyes E, Méndez-Montealvo G, Solorza-Feria J, Toro-Vazquez JF y Bello-Pérez LA. 2003.** Rheological and thermal characterization of *Okenia hypogaea* (Schlech. & Cham.) starch. *Carbohydr Polymers.* 52: 297-310.
- Gudmundsson M. 1994.** Retrogradation of starch and the role of its components. *Thermochimica Acta.* 246: 329-341.
- Guilbot A y Mercier C. 1985.** Starch: The Polysaccharides. In: Aspinall O. New York, USA: Academic Press. 209-282 pp.
- Gunaratne A y Hoover R. 2002.** Effect of heat-moisture treatment on the structure and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydr Polymers.* 49: 425-437.
- Guzmán-Maldonado H. 1992.** Optimización de un procedimiento enzimático para la licuefacción y sacarificación del almidón mediante la metodología de superficie de respuesta. *Tesis de Maestría.* CINVESTAV-IPN. Irapuato, México.
- Han XZ, Campanella OH, Guan H, Keeling PL y Hamaker BR. 2002.** Influence of maize starch granule-associated protein on the rheological properties of starch pastes. Part II. Dynamic measurements of viscoelastic. *Carbohydr polymers.* 49: 323-330.
- Hernández HE. 2005.** Influencia de la *L-alfa lisofosfatidilcolina* sobre las propiedades térmicas y estructurales del almidón de maíz nativo. *Tesis de Licenciatura.* Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo. 02-43 pp.
- Hernández-Lauzardo AN, Mendez-Montealvo MG, Velazquez del Valle MG, Solorza-Feria J y Bello-Pérez LA. 2004.** Isolation and partial characterization of Mexican Oxalis tuberosa starch. *Starch/Stärke.* 56: 357-363.
- Hernández-Uribe JP, Pérez-Román G, Méndez-Montealvo G, Bello-Pérez LA y Solorza-Feria J. 2004.** Thermal and viscoelastic properties of starch isolated from mexican corn hybrids. *Food Technol.* 55: 276-287.

-
- Herrera-Saldana RE, Huber JT y Poore MH. 1990.** Dry matter, crude protein, and starch degradability of five cereal grains. *J Dairy Sci.* 73: 2386-2393.
- Hoover R. 2001.** Composition, molecular, structure, and physicochemical properties of tuber and root starches. *Carbohydr Polymers.* 45: 253-267.
- Hoover R y Vasanthan T. 1994.** The effect of annealing on the physico-chemical properties of wheat, oat, potato and lentil starches. *Journal of Food Biochemistry.* 17: 303-325.
- Hoseney RC. 1998.** Principios de ciencia y tecnología de los cereales. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España.
- Hoseney RC y Faubion JM. 1992.** Physical properties of cereal grains. In: Sauer DB editor. Storage of cereal grains and their products. St. Paul MN, USA: Am. Assoc. Cereal Chem. 1-38 pp.
- Hoseney RC, Zeleznak KJ y Yost DA. 1986.** A note the gelatinization of starch. *Starch/Stärke.* 38: 407-409.
- Hu B y Essen A. 1981.** Heterogeneity of soybean seed proteins: Onedimensional electrophoretic profile of six different solubility fractions. *J Agric Food Chem.* 29: 497-501.
- Jacobs H y Delcour JA. 1998.** Hydrothermal modifications of granular starch, with retention of the granular structure: a review. *J Agric Food Chem.* 46 (8): 2985-2905.
- Jaenicke-Despres V, Buckler ES, Smith BD, Gilbert MTP, Cooper A, Doebley J, Pabo S. 2003.** Early allelic selection in maize as revealed by ancient DNA. *Science.* 302: 1206-1208.
- Jane J, Shen L, Wang L y Maningat CC. 1992.** Preparation and properties of small-partiicle corn starch. *Cereal Chem.* 69: 280-283.
- Ji Y, Seetharaman K y White PJ. 2004.** Optimizing a small-scale corn-starch extraction method for use in the laboratory. *Cereal Chem.* 81 (1): 55-58.
- Jobling S. 2004.** Improving starch for food and industrial applications. *Plant Biology.* 7: 210-218.
- Kwon K, Park KH y Rhee KC. 1996.** Fractionation and characterization of proteins from coconut (*Cocos nucifera L.*). *J Agric Food Chem.* 44: 1741-1745.

-
- Lai L y Kokini. 1991.** Physicochemical changes and rheological properties of starch during extrusion (A review). *Biotechnology Progress*. 7 (3): 251-266.
- Leloup V, Colonna P y Ring SG. 1990.** Studies on probe diffusion and accessibility in amylose gels. *Macromolecules* 23: 862-866.
- Lindeboom N, Chang RP y Tylera TR. 2004.** Analytical, biochemical and physicochemical, aspects of Starch Granule Size, with Emphasis on Small Granule Starches: A Review. *Starch/Stärke*. 56: 89-99.
- Liu Q y Thompson DB. 1998.** Effects of moisture content and different gelatinization heating temperatures on retrogradation of waxy type maize starches. *Carbohydr Research*. 314 (3-4): 221-235.
- Lund DB. 1983.** Applications of differential scanning calorimetry in foods. In: Pelleg M y Baglye L. Physical properties of foods. Connecticut: AVI. 125-155 pp.
- Manners DJ. 1989.** Recent developments in our understanding of amylopectin structure. *Carbohydr Polym*. 11: 87-112.
- Matsuoka Y, Vigouroux Y, Goodman MM, Sanchez GJ, Buckler ES y Doebley JF. 2002.** A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proc Natl Acad Sci*. 99: 6080-6084.
- McDough CM, Rooney LW. 1999.** Use of the environmental scanning electron microscope in the study of cereal-based foods. *Cereal Foods World*. 44: 342-348.
- Miranda JO. 1976.** Incidencia de genes modificadores del endospermo Opaco-2 en 25 razas mexicanas de maíz y su efecto en la textura y calidad proteica del grano. ENA. *Tesis de doctorado en ciencias*. Colegio de Postgraduados. Chapingo, México.
- Morrison WR. 1995.** Starch lipids and how they relate to starch granule structure and functionality. *Cereal Foods World*. 40: 437-446.
- Morrison WR y Karkalas J. 1990.** Starch. In: Dey, P.M., (Ed.), *Methods in Plant Biochemistry*, vol. 2. Academic Press, London. 323–352 pp.
- Mua JP y Jackson DS. 1997.** Fine structure of corn amylose and amylopectin fractions with various molecular weights. *J Agric Food Chem*. 45: 3840-3847.

-
- Noda T, Takahata, Y, Sato TT, Ikoma H y Mochinda H. 1996.** Physicochemical properties of starches from purple and orange fleshed sweet potato roots at two levels of fertilizer. *Starch/Stärke*. 48: 395-399.
- Ojeda CA, Tolaba MP y Suarez C. 2000.** Modeling starch gelatinization kinetics of milled rice flour. *Cereal Chem.* 77 (2): 145-147.
- Paliwal RL, Granados G, Lafitte R y Violic DA. 2001.** Maíz en los Trópicos: Mejoramiento y producción. Colección FAO: producción y protección vegetal. 1-91.
- Pandey S. 1998.** Maize seed industries in developing. In: Morris ML editor. Varietal development conventional plant breeding. Colorado: Rienner y CIMMYT. 401.
- Paredes-López O, Barba de la Rosa AP, Hernández-López D y Carabes-Trejo A. 1990.** Amaranto: Características alimentarias y agroindustriales. Secretaria General de los Estados Americanos. Washington, D.C.
- Paredes-López O, Bello-Pérez LA y López MG. 1994.** Amylopectin: Structural, gelatinisation and retrogradation studies. *Food Chem.* 50: 411-417.
- Paredes-López O y Saharópulos-Paredes ME. 1983.** Maize, a review of tortilla production technology. *Baker's Dig.* 13: 16-25.
- Pérez-Sira E. 1997.** Characterization of starch isolated from plantain (*Musa paradisiaca normalis*). *Starch/Stärke*. 49: 45.
- Portillo-González JI, López-Presa JO, Casco-Flores JA y Gutiérrez-Tapia R. 1995.** Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos: La producción de maíz en México. *Claridades Agropecuarias*. 10: 1-6.
- Qi ZH y Xu A. 1999.** Starch-based ingredients for flavor encapsulation. *Cereal Foods World*. 30: 443-446.
- Reyes CP. 1990.** El maíz y su cultivo. 1ra ed. México, DF: AGT Editor S.A.
- Rooney LW y Huang DP. 2001.** Starches for snack foods. In: Lusas EW y Rooney LW editors. Snack foods processing. Pennsylvania: Technomic Publishing Company. 115-130 pp.
- Sanders EB, Thompson DB y Boyer CD. 1990.** Thermal behavior during gelatinization and amylopectin fine structure for selected maize genotypes as expressed in four inbred lines. *Cereal Chem.* 67: 594-602.

-
- Sandhu KS y Singh N. 2007.** Some properties of corn starches II: Physicochemical, gelatinization, retrogradation, pasting and gel textural properties. *Food Chem.* 101: 1499-1507.
- Sandhu KS, Singh N y Kaur M. 2004.** Characteristics of the different corn types and their grain fractions: physicochemical, thermal, morphological, and rheological properties of starches. *Journal of Food Engineering* 64: 119-127.
- Serna SSR. 2001.** Química, almacenamiento e industrialización de los cereales. AGT ed. México, D. F.
- Sievert D y Wursch P. 1993.** Amylose chain association based on differential scanning calorimetry. *J Food Sci.* 58: 1332-1345.
- Singh J, Kaur L, McCarthy OJ. 2007.** Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications-A review. *Food Hydrocolloids.* 21: 1-22.
- Singh J, Kaur L y Singh N. 2004.** Effect of acetylation on some properties of corn and potato starches. *Starch/Stärke.* 56: 586-601.
- Singh J y Singh N. 2001.** Studies on the morphological, thermal and rheological properties of starch from some Indian potato cultivars. *Food Chem.* 75: 67-77.
- Singh N, Inouchi N y Nishinari K. 2006.** Structural, thermal and viscoelastic characteristics of starches separated from normal, sugary and waxy maize. *Food Hydrocolloids.* 20: 923-935.
- Singh N, Singh J, Kaur L, Sodhi NS y Gill BS. 2003.** Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. *Food Chem.* 81: 219-231.
- Slade L y Levine H. 1991.** Beyond water activity: recent advances base on an alternative approach to the assessment of food quality and safety. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 30 (2-3): 115-360.
- Smith AM, Denyer K y Martin C. 1997.** The synthesis of the starch granule. *Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 67-87.
- StatSoft, Inc. 2001.** STATISTICA (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com.

-
- Steven GB. 1995.** Recent views on the biosynthesis of the plant starch granule. *Glycosci Glycotechnol.* 7 (37): 405-415.
- Swinkels JJM. 1985.** Composition and properties of commercial native starches. *Starch/Stärke.* 37: 1-5.
- Tang H, Watanabe K y Mitsunaga T. 2002.** Characterization of storage starches from quinoa, barley and adzuki seeds. *Carbohydr Polym.* 49: 13-22.
- Tester RF y Debon SJJ. 2000.** Annealing of starch-a review. *Int J Biological Macromol.* 27: 1-12.
- Tester RF, Karkalas I y Qi X, 2004.** Starch-composition, fine structure and architecture. *J Cereal Sci.* 39: 151-165.
- Tester RF y Karkalas J. 2002.** Starch. In: Steinbüchel, A. (Series Ed.) Vandamme, E.J., De Baets, S., Steinbüchel, A. (vol. Eds.), *Biopolymers*, vol. 6. Polysaccharides. II. Polysaccharides from Eukaryotes, Wiley-VCH, Weinheim. 381-438 pp.
- Thomas DJ y Atwell WA. 1999.** Starch structure. In: Thomas DJ y Atwell WA editors. *Starches. Practical guide for the food industry.* St Paul Minnesota USA: Eagan Press Handbook. 1-12 pp.
- Thompson DB. 2000.** On the non-random nature of amylopectin branching. *Carbohydr Polym.* 43: 223-239
- Toro-Vazquez JF y Gómez-Aldapa CA. 2001.** Chemical and physicochemical properties of maize starch after industrial nixtamalization. *Cereal Chem.* 78: 543 – 550.
- Vasathan T y Hoover R. 1991.** A comparative study of the composition of lipids associated with starch granules from various botanical sources. *Food Chem.* 43: 19-27.
- Wang L y Wang YJ. 2001.** Comparison of protease digestion at neutral pH with alkaline steeping method for rice starch isolation. *Cereal Chem* 78: 690-692.
- Wang L y Wang YJ. 2004.** Rice starch isolation by neutral protease and high-intensity ultrasound. *J Cereal Sci.* 39: 291-296.
- Wang S, Gao W, Chen H y Xiao P. 2005.** New starches from *Fritillaria* species medicinal plants. *Carbohydr Polym.* 61: 111-114.

-
- Watson SA. 1987.** Structure and composition corn, chemistry and technology. AACC. 53-82.
- Whistler RL y Daniel JR. 1984.** Molecular structure of starch. In: Whistler RL, Bemiller JN y Paschall EF editors. Starch: Chemistry and Technology. New York, U.S.A: Academic Press. 154-180 pp.
- Wolf MJ, Buzan CL, MacMasters MM, y Rist CE. 1952a.** Structure of the mature corn kernel. I Gross Anatomy and structural relationships. *Cereal Chem.* 29: 321-333.
- Wolf MJ, Buzan CL, MacMasters MM, y Rist CE. 1952b.** Structure of the mature corn kernel. II Gross Anatomy and structural relationships. *Cereal Chem.* 29: 334-348.
- Wolf MJ, Buzan CL, MacMasters MM, y Rist CE. 1952c.** Structure of the mature corn kernel. III Gross Anatomy and structural relationships. *Cereal Chem.* 29: 349-361.
- Wolf MJ, Buzan CL, MacMasters MM, y Rist CE. 1952d.** Structure of the mature corn kernel. IV Gross Anatomy and structural relationships. *Cereal Chem.* 29: 362-382.
- Yuan RC, Thompson DB y Boyer CD. 1993.** Fine structure of amylopectin in relation to gelatinization and retrogradation behavior of maize starches from three wx-containing genotypes in two inbred lines. *Cereal Chem.* 70: 81-89.
- Zhao J y Whistler RL. 1994a.** Spherical aggregates of starch granules as flavor carriers. *Food Technol.* 48 (7): 104-105.
- Zhao J y Whistler RL. 1994b.** Isolation and characterization of starch from amaranth flour. *Cereal Chem.* 71: 392-393.
- Zobel HF y Stephen AM. 1996.** Starch: structure, analysis and application. In: Stephen AM editor. Food Polysaccharides and their Application. New York: Marcel Dekker. 19-66 pp.